ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1981 THESE : 144

PURPURA THROMBOCYTOPENIQUE IMMUNOLOGIQUE

CHEZ LE CHIEN

THESE

Pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en 1981

par

Christine, Isabelle BOUSSIQUET

Née le 10 mars 1954 à SAINT-MANDE (Val-de-Marne)

Membres du Jury

Président : ..... Monsieur DELSOL
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : ..... Monsieur MAGNOL
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur VAN HAVERBEKE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1981

THESE : 144

PURPURA THROMBOCYTOPENIQUE IMMUNOLOGIQUE CHEZ LE CHIEN

THESE

Pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en 1981

par

Christine, Isabelle BOUSSIQUET

Née le 10 mars 1954 à SAINT-MANDE (Val-de-Marne)

Membres du Jury

Président : ..... Monsieur DELSOL
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : ..... Monsieur MAGNOL
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur VAN HAVERBEKE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : ..... M.LAUTIE
Directeur honoraire : ..... M. FLORIO
Professeurs honoraires : ..... M. BRIZARD
..... M. SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT
CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. GODFRAIN
Professeur sans chaire ..... Mme BURGAT-SACAZE

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire ..... M. RICO
Professeur sans chaire ..... M. BRAUN
Maître Assistant ..... M. BENARD

Physique Biologique et Médicale
Chimie Biologique et Médicale
Informatique biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire ..... M. PAVAUX
Maître Assistant ..... M. LIGNEREUX
Maître Assistant ..... M. SAUTET

Organogénèse - Tératologie
Anatomie Générale - Anatomie Appliquée

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE, PHARMACODYNAMIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire ..... M. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire ..... M. FARGEAS
Maître Assistant Agrégé ..... M. TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie - Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire ..... M. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire ..... M. CABANIE
Maître Assistant Agrégé ..... M. MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique - Clinique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire ..... M. LABIE
Maître de Conférences ..... M. EECKHOUTTE
Maître Assistant Agrégé ..... Mme BENARD

Hygiène - Inspection - Contrôle et Technologie des denrées alimentaires d'origine animale - Clinique

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire ..... M. DORCHIES
Maître de Conférences ..... M. FRANC
Maître Assistant ..... M. DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Ecologie - Parasitologie externe -
Dermatologie - Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE
DES EQUIDES ET CARNIVORES ET DE LEGISLATION

Professeur titulaire ..... M. LESCURE
Maître de Conférences ..... M. GUELFI
Maître Assistant ..... M. REGNIER

Sémiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL
ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire ..... M. TOURNUT
Maître de Conférences ..... M. BEZILLE
Maître Assistant ..... M. JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du bétail et des animaux de basse-cour
Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire ..... M. CAZIEUX
Maître de Conférences ..... M. GENEVOIS
Maître-Assistant ..... M. AUTEFAGE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale - Radiologie - Technique Chirurgicale - Anesthésiologie
Pathologie Chirurgicale - Clinique - Traumatologie - Podologie orthopédique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire ..... M. FERNEY
Professeur sans chaire ..... M. ROYAL

Pathologie de l'appareil génital et de la mamelle - Sémiologie et Propédeutique - Pathologie de la
Reproduction - Obstétrique et pathologie du nouveau-né - Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES -
LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire ..... M. CHANTAL
Maître Assistant ..... M. PICAVET

Epidémiologie - Maladies contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. LAUTIE
Maître Assistant ..... M. PELLERIN

Microbiologie - Immunologie - Pathologie Générale

CHAIRE D'ELEVAGE ET ECONOMIE

Professeur titulaire ..... M. QUEINNEC
Professeur sans chaire ..... M. DARRE
Maître Assistant ..... Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique animale - Extérieur - Zootechnie et Economie générales - Ethologie
appliquée, Sciences, Techniques, Economie de l'Elevage et des Productionsanimales
Insémination artificielle - Organisation de l'Elevage

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire ..... M. FALIU
Professeur sans chaire ..... M. GRIESS

Botanique appliquée et Bromatologie - Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs : ANGELIER, ARMENGAUD, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET, et MAZENC.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsable des opinions émises par les candidats
(Délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924).

A Monsieur le Professeur DELSOL

de l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre Jury de thèse.

A notre Jury de thèse :

Monsieur le Professeur MAGNOL
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui nous a inspiré notre sujet.
Profonde gratitude.

Monsieur le Professeur VAN HAVERBEKE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui a bien voulu faire partie de notre Jury de thèse.
Qu'il trouve ici l'expression de nos sincères remerciements.

A tous nos Maîtres

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

A Monsieur PERRIER
Professeur de biologie en classe préparatoire
aux Ecoles Nationales Vétérinaires

En hommage à la qualité de son enseignement.

Aux Docteurs Vétérinaires

- BERGUE
- CHARRIN
- DULHOSTE
- HEUDE
- MAURY
- PIGET
- TOULAT
- VERGE

Qui nous ont accueilli avec bienveillance
et nous ont fait profiter de leur expérience.

A MON PERE

A MA MERE

En témoignage de mon affection et de ma profonde reconnaissance.

A MA SOEUR

A MES NEVEUX

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

P L A N

INTRODUCTION

A - LES PLAQUETTES SANGUINES ou THROMBOCYTES

1) Définition

2) Production

21 - Mégacaryocytopoïèse

211- Promégacaryocyte ou mégacaryocyte de type I

212- Mégacaryocyte de type II

22 - Thrombocytopoïèse

3) Caractéristiques morphologiques et structure plaquettaire

31 - Caractéristiques plaquettaires

32 - Structure plaquettaire

321- Anatomie de la cellule

3211 - Zone périphérique

3212 - Zone sol-gel

3213 - Zone des organelles

32131) granules

32132) mitochondries

32133) corps denses aux électrons

32134) canaux du système tubulaire dense

B - PHYSIOLOGIE DES PLAQUETTES - LEUR ROLE dans la COAGULATION SANGUINE

1) Physiologie plaquettaire

11 - Chronologie et description
  111- Attraction et adhésion plaquettaires
  112- Changement de forme
  113- Sécrétion et agrégation

12 - Mécanismes mis en jeu lors de l'activation plaquettaire
  121- Adhésion des plaquettes
  122- Changement de forme des plaquettes émission de pseudopodes
  123- Agrégation induite par l'ADP
  124- Agrégation induite par la thrombine, le collagène et certaines prostaglandines
  125- Extrusion des granules

13 - Rôle des prostaglandines et du thromboxane dans l'activation plaquettaire
  131- L'acide arachidonique
  132- libération de l'acide arachidonique
    1321 - les phospholipases plaquettaires
    1322 - les phospholipases impliquées dans la libération de l'acide arachidonique
  133- Les transformations de l'acide arachidonique
    1331 - principales réactions de transformation de l'acide arachidonique dans les plaquettes et la paroi artérielle
    1332 - les métabolites majeurs de l'acide arachidonique - leur rôle
      13321) le thromboxane A2
      13322) les endopéroxydes cyclique
      13323) la prostaglandine E2

13324) troisième voie possible d'activation des plaquettes

14 - Régulation de la fonction plaquettaire par la cellule endothéliale

141- la prostacycline

142- synthèse

143- mode d'action et rôle

2) Rôle des plaquettes dans l'hémostase et la coagulation sanguine

21 - Intégrité vasculaire

22 - Effet vaso-constricteur

23 - Plaquettes et coagulation sanguine

231- Rappel chronologique et descriptif des trois temps de l'hémostase

2311) temps vasculo-plaquettaire

2312) temps de la coagulation plasmatique

2313) fibrinolyse

232- Facteurs plasmatiques et facteurs plaquettaires: leur mise en jeu lors de la coagulation

2321) les facteurs plasmatiques

2322) les facteurs plaquettaires

2323) mise en jeu des facteurs plasmatiques lors de la coagulation

C - CONCEPT d'AUTO-IMMUNITE et PATHOGENIE des MALADIES AUTO-IMMUNES

1) Définition

2) Théories de l'auto-immunité

21 - Facteurs favorisant l'auto-immunité

211- l'âge

212- le sexe

213- les facteurs génétiques

214- rôle d'infections virales ou bactériennes

215- rôle de déficits immunitaires

22 - Les théories de l'auto-immunité

221- théorie des clones interdits

222- tolérance portée par les lymphocytes T

223- perte de la fonction suppressive normale des lymphocytes T

224- stimulation "non spécifique" des cellules B préexistant

3) Pathogénie des maladies auto-immunes

31 - Réactions cytolytiques ou cytotoxiques

32 - Réactions dues aux complexes immuns toxiques

33 - Réactions à médiation cellulaire

D - LE PURPURA THROMBOCYTOPENIQUE IMMUNOLOGIQUE CHEZ L'HOMME

1) Introduction

2) Définition

3) Historique

4) Etiopathogénie

41 - Caractère auto-immun du syndrome

42 - Nature et rôle de l'anticorps anti-plaquettaire

43 - Rôle possible de complexes immuns

44 - Rôle de l'immunité à médiation cellulaire

5) Lésions

51 - Lésions cellulaires

511- Mégacaryocytes

512- Plaquettes phagocytées au niveau de la rate

52 - Lésions tissulaires

6) Classification

61 - P.T.I idiopathique

62 - P.T.I symptomatique ou secondaire

7) Etude succinte des divers types cliniques

71 - Le P.T.I aigü

72 - Le P.T.I chronique

73 - Le P.T.I récurrent

8) Diagnostic

81 - Diagnostic clinique d'exclusion

811- 1ère étape

812- 2ème étape

813- 3ème étape

814- 4ème étape

82 - Tests de laboratoire

821- étude des mégacaryocytes, des mégathrombocytes et des plaquettes

8211) mégacaryocytes

8212) utilité du mégathrombocyte

comme index de thrombocytopoïèse

8213) plaquettes

82131.taux plaquettaire

82132.étude de la durée de vie

82133.étude de l'agrégation des plaquettes

83 - Etude de l'hémostase

831- temps de saignement

832- résistance capillaire

833- rétraction du caillot

834- tests de coagulation

8341) temps de QUICK

8342) consommation de prothrombine

84 - Mise en évidence d'immunoglobulines à la surface des plaquettes

841- test de COOMBS direct

842- test de DIXON et ROSS

85 - Mise en évidence d'anticorps sériques

851- thromboagglutination

852- fixation du complément

853- dosage de la sérotonine marquée

854- dosage du FP3

8541) disponibilité en présence de kaolin

8542) disponibilité en présence de célite

86 - Recherche des manifestations d'une hypersensibilité de type retardé

861- test de transformation lymphoblastique

862- test d'inhibition de la migration des macrophages

87 - Bilan immunologique et recherche d'anomalies auto-immunes associées

871- bilan immunologique

872- recherche d'anomalies auto-immunes associées

8721) L.E.D

8722) A.H.A.I

9) Traitement

91 - Traitement de soutien

92 - La splénectomie

93 - Les corticoïdes

94 - Les agents immuno-suppresseurs

E - LE PURPURA THROMBOCYTOPENIQUE IMMUNOLOGIQUE CHEZ LE CHIEN

1) Définition

11 - Conditions d'apparition

12 - Modifications hématologiques

13 - Modifications histologiques

14 - Modification de certains caractères de l'hémostase

15 - Présence d'anticorps antiplaquettaires

2) Historique

3) Etiopathogénie

4) Etude descriptive des différents cas cliniques relevés dans la littérature :

41 - MAGRANE

411- signes cliniques

412- signes hématologiques

413- traitement
414- évolution

42 - BRODEY
421- signes cliniques
422- signes hématologiques
423- traitement
424- évolution

43 - GOWING
431- Cas n°1
4311) signes cliniques
4312) signes hématologiques
4313) traitement
4314) évolution

432- Cas n°2
4321) signes cliniques
4322) signes hématologiques
4323) traitement
4324) évolution

44 - SCHALM
441- Cas n°1
4411) commémoratifs et signes clinic
4412) signes hématologiques
4413) traitement

442- Cas n°2
4421) signes cliniques
4422) signes hématologiques
4423) traitement
4424) évolution

443- Cas n°3

45 - WILKINS

451 - signes cliniques

452 - signes hématologiques et biologiques

46 - JOSHI

461- signes cliniques

462- signes hématologiques

47 - GROULADE

471- signes cliniques

472- signes hématologiques et biologiques

5) Lésions

51 - Lésions macroscopiques

511- au niveau de la peau

512- au niveau des muqueuses

513- autopsies de WILKINS

514- autopsies de GOWING

52 - Lésions microscopiques

521- la rate

5211) selon MAGRANE

5212) selon GOWING

522- la moelle osseuse

6) Diagnostic

61 - Diagnostic différentiel

62 - Diagnostic positif

621- basé sur les signes cliniques

622- test de laboratoire

6221) étude de l'hémogramme

62211. globules rouges

62212. globules blancs

62213. thrombocytes

6222) étude de l'hémostase

62221. temps de coagulation

62222. temps de QUICK

62223. temps de saignement

62224. temps de rétraction du caillot

62225. test de fragilité capillaire

623- Etude histologique de la moelle osseuse

6231) description

6232) technique de ponction de la moelle osseuse

624- Méthodes diagnostiques immunologiques

6241) test de libération du FP3

625- recherche d'anomalies auto-immunes associées

6251) anémies hémolytiques auto-immunes

6252) lupus érythémateux disséminé

62521. signes cliniques et hématologiques

62522. examens de dépistage simpl

62523. examens spécifiques

7) Pronostic

8) Traitement

81 - Contrôle du saignement

82 - Traitement des affections sous-jacentes

83 - Corticothérapie

84 - Splénectomie

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

Les maladies auto-immunes ont fait l'objet de nombreux travaux qui bénéficient actuellement des progrès récents de l'immunologie.

Chez le chien, les anémies hémolytiques et le lupus érythémateux disséminé ont été étudiés de façon poussée tant aux Etats-Unis qu'en France.

Le purpura thrombocytopénique immunologique n'a pas été l'objet de nombreuses publications dans notre pays. Peut-être parce qu'il représente une affection plus rare ou simplement parce qu'il est parfois compris dans le tableau clinique d'autres maladies auto-immunes.

C'est pourquoi, il nous a paru utile de tenter d'effectuer une synthèse des connaissances actuelles dans ce domaine.

La première partie de ce travail présente les principales caractéristiques du thrombocyte.

La seconde partie traite de la physiologie de la plaquette sanguine et de son rôle dans les phénomènes de coagulation.

Avant d'effectuer une étude du purpura thrombocytopénique immunologique, il importait d'évoquer dans une troisième partie le concept d'auto-immunité et la pathogénie des maladies auto-immunes.

Enfin dans une quatrième partie, l'étude du purpura

thrombocytopénique immunologique a été menée en deux temps. Un rappel des principales modalités de la maladie humaine est suivi des connaissances que nous possédons chez le chien.

Il nous permettra de tirer des conclusions quant à l'intérêt du modèle animal expérimental comme élément d'une connaissance toujours plus appronfondie de cette maladie.

1ERE PARTIE

LES PLAQUETTES SANGUINES
ou THROMBOCYTES

1 - Définition

Le thrombocyte est l'élément cellulaire le plus petit du sang circulant. Il possède diverses caractéristiques lui permettant de jouer un rôle essentiel dans l'hémostase et de participer au maintien de l'intégrité capillaire.

2 - Production (1)

Elle a lieu à partir d'une cellule géante multinucléée de la moelle osseuse hématopoïétique (ou du poumon chez l'Homme et le Chien): le mégacaryocyte.

21) Mégacaryocytopoïèse:

Les études effectuées après marquage des noyaux à la thymidine tritiée suggèrent l'existence d'un précurseur cellulaire non encore reconnu. La cellule la plus immature que l'on puisse distinguer est déjà un mégacaryocyte, incapable de se reproduire.

211 - Promégacaryocyte = mégacaryocyte de type I :

Un phénomène d'endomitose conduit à une augmentation de taille du mégacaryocyte et à la production d'un noyau polyploïde.

Une division nucléaire répétée sans division de la cellule conduit à des mégacaryocytes possédant 4 - 8 - 16

ou 32 noyaux.

Ce phénomène requiert la synthèse d'A.D.N.,ce qui a lieu avant la maturation du cytoplasme conduisant à la production de plaquettes.

A ce stade on parle de promégacaryocyte de type I. Sa variation de taille est fonction du nombre de noyaux, la division nucléaire pouvant s'arrêter dès 8 N chromosomes ou continuer jusqu'à 32 N avant que la maturation cytoplasmique ait lieu.

Le cytoplasme de ces promégacaryocytes est d'ailleurs caractérisé par une couleur basophile et un aspect non granuleux.

212 - Mégacaryocyte de type II

Ce sont des mégacaryocytes matures, qui sont caractérisés par un cytoplasme comportant des granulations azurophiles. Leur taille varie en fonction de leur matériel chromosomique.

22) Thrombocytopoïèse

Le cytoplasme des mégacaryocytes produit des milliers de plaquettes individualisées après bourgeonnement à la surface cellulaire. Leur libération dans le sang circulant s'effectue par production de pseudopodes pénétrant dans l'appareil circulatoire.

Pour certains, les cellules souches passeraient dans la circulation pour y libérer leurs plaquettes.

Un tiers du total des plaquettes est concentré dans la rate. Les 2/3 restants sont disséminés dans tout l'appareil circulatoire.

Plusieurs éléments ont pu être précisés à la suite

d'expériences de thrombocytopénie induite:

On prélève chez le Chien un certain volume de sang duquel est retiré l'ensemble des plaquettes. Ce volume sanguin est réintroduit dans l'appareil circulatoire de l'animal; on constate alors les faits suivants:

- une certaine quantité de plaquettes est libérée de façon rapide mais brève dans le sang circulant.

- cette phase est suivie d'une thrombocytopénie qui dure 3 à 4 jours

- une thrombocytose progressive s'installe ensuite

- les mégacaryocytes immatures augmentent en nombre dans la moelle osseuse durant la phase précoce de la thrombocytopénie induite. Ils requièrent au moins 3 jours de maturation avant d'être capables de libérer des plaquettes en grand nombre.

3 - Caractéristiques morphologiques et structure plaquettaire

31) Caractéristiques plaquettaires (2)

Il s'agit chez les mammifères, de cellules anucléées de forme biconvexe comportant un granulomère central azurophile et un hyalomère faiblement basophile. Leur vie métabolique est intense puisque leur quotient respiratoire est voisin de 1, soit 50 fois supérieur à celui du globule rouge.

Leur taille est en moyenne de 3 microns.

Leur nombre varie entre 200 000 et 500 000 ou plus par millimètre cube de sang. Un état de thrombocytopénie se développe lorsque ce taux descend en dessous de 100 000.

Leur durée de vie est en moyenne de 10 jours.

L'étude systématique du volume moyen plaquettaire a conduit aux chiffres suivants :

- Chez l'Homme 7,3 microns cubes
- Chez le Chien 9,16 microns cubes

Le Chien, comme d'ailleurs le Chat et le Porc est considéré comme macro-plaquettaire.

Quelle que soit l'espèce, aucune image de double population au sein de la distribution des volumes plaquettaires n'a été constatée. Par contre, il en va différemment de la densité.

KARPATKIN isole deux catégories extrêmes représentant chacune 15% de l'ensemble de la population. Il distingue des plaquettes légères de densité inférieure à 1,046 et des plaquettes lourdes de densité supérieure à 1,055.

Les plaquettes lourdes ont une capacité d'adhésion 2 à 3 fois supérieure, elles contiennent 1,3 fois plus d'A.T.P 2 fois plus d'A.M.P et 2 à 3 fois plus de glycogène.

La glycogénèse ainsi que la néoglycogénèse est également plus active dans cette catégorie.

Selon les auteurs anglo-saxons, l'hétérogénéité de la population plaquettaire correspond à un phénomène de sénescence cellulaire.

A cette hypothèse s'oppose celle de DELCOUR dont les travaux ont montré qu'il n'y a pas de relation entre l'âge et la densité plaquettaire, on pense donc plutôt à un déterminisme mégacaryocytaire de l'hétérogénéité des plaquettes. Le mégacaryocyte libèrerait (chez l'Homme, chez le Rat) "au hasard" des plaquettes de taille et de densité différentes suivant la durée de la croissance et de la maturation mégacaryocytaire.

Notons que pour certains, cette libération pourrait

aspect des plaquettes au microscope à balayage électronique (3) Photo n° 1

Photo n

s'opérer au moins à trois niveaux de ploïdie: 8 N - 16 N - 32 N.

Adhésivité plaquettaire: la plaquette adhère à tout support sauf la cellule endothéliale. Cette particularité, directement liée au rôle physiologique de la cellule rend cette dernière difficile à prélever et à séparer du sang total. Les prélèvements s'effectuent avec du matériel siliconé sur anticoagulant (liquide d'ASTER ou solution ACD :
acide citrique : 1,36 g
citrate disodique : 3,03 g
glucose anhydre : 2 g
Q.S.P: 100 ml d'eau distillée)
en utilisant 1ml d'anticoagulant pour 4 ml d'eau.

Une technique de séparation par ultracentrifugation sur gradient linéaire et continu est ensuite utilisée. On obtient du P.R.P (plasma riche en plaquettes) par centrifugation à 900 tours/minute pendant 10 mn à la température de la salle.

Le P.R.P est à nouveau centrigugé et le surnageant est le P.P.P. (plasma pauvre en plaquettes).

32) Structure plaquettaire (3)

Le microscope optique révèle peu de choses que nous n'ayions déjà évoquées, aussi allons-nous surtout étudier l'anatomie de la plaquette au microscope électronique.

Les photographies n°1 et 2 de plaquettes au microscope électronique à balayage nous montrent bien la forme discoïde et la surface cellulaire très lisse à l'exception de cavités (voir flèches) qui sont les sites de communication entre les canaux du système canaliculaire lié à la surface

et la paroi cellulaire.

Les deux photographies suivantes (n°3 et 4) représentent des plaquettes humaines normales fixées au glutaraldéhyde d'osmium. Nous y reconnaissons la plupart des structures figurant sur les deux schémas A et B (photocopies n°5 et 6).

321 - Anatomie de la cellule (3) (4)

On distingue trois zones :

3211 - la zone périphérique

Au delà de la membrane plasmique à trois feuillets se trouve un revêtement externe amorphe de 100 à 200 Å d'épaisseur: le glycocalix ou atmosphère périplaquettaire de ROSCAM.

Ce revêtement est très riche en facteurs plasmatiques de l'hémostase et en protéines plasmatiques. En effet, on retrouve adsorbé à la surface plaquettaire du fibrinogène, des Ig M, des facteurs V, XI et VIII. La surface plaquettaire comporterait aussi de l'actomyosine, de l'adényl-cyclase et diverses glycosyl-transférases.

Dans la membrane plasmique, les phospholipides ont une distribution asymétrique qu'il convient de signaler (5).

Le schéma suivant illustre la distribution des phospholipides membranaires de la plaquette humaine.

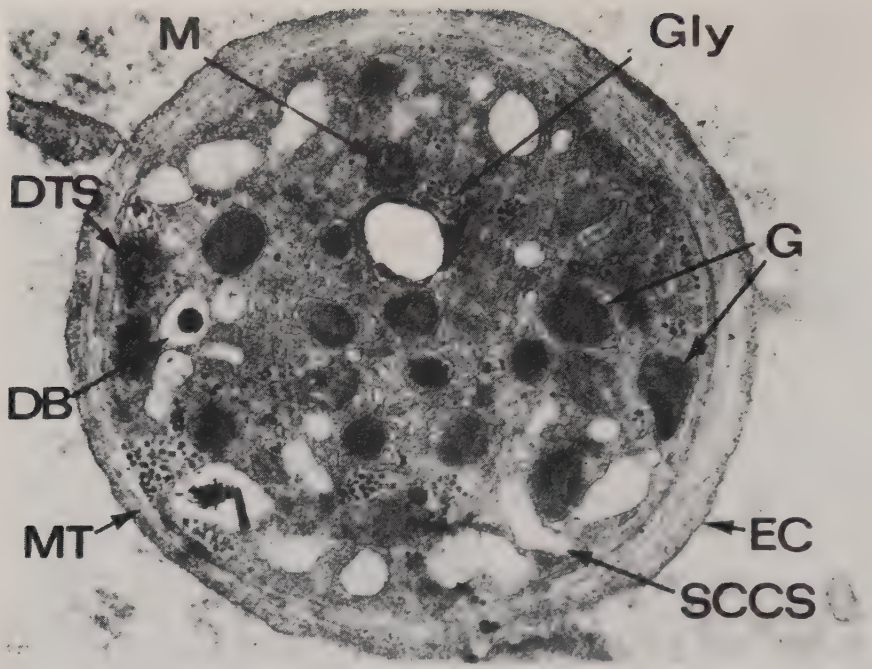


Photo n

examen au microscope électronique de sections de plaquettes humaines, fixées au glutaraldéhyde d'osmium. (3).

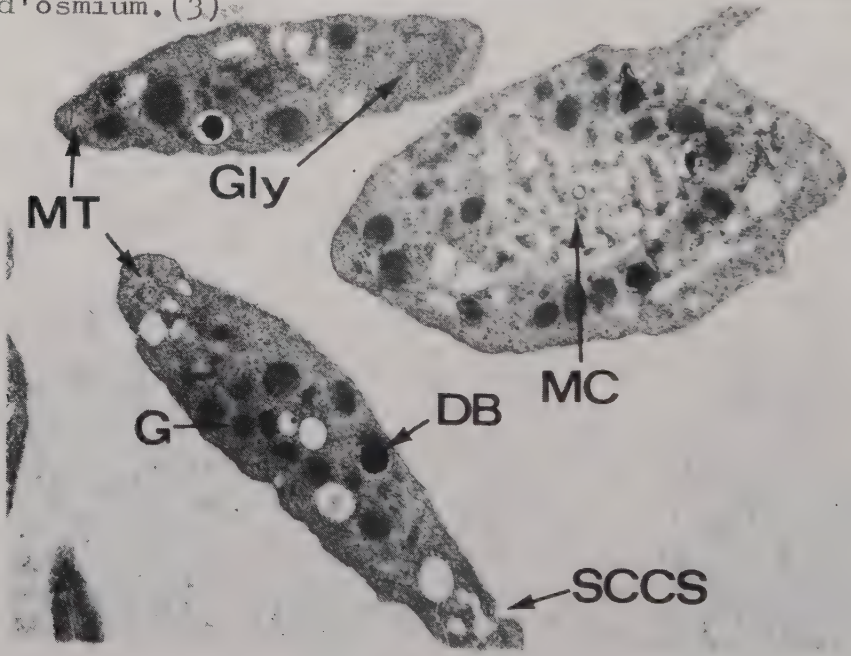
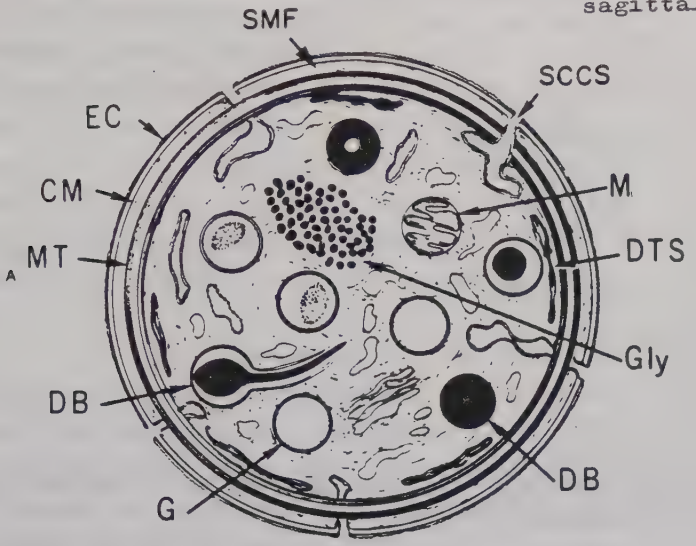


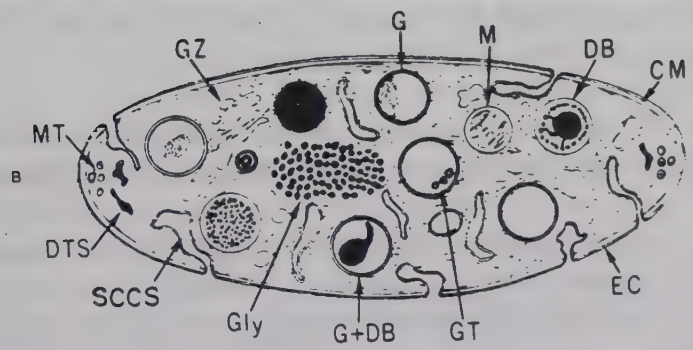
Photo n

M: mitochondrie
M.T: microtubules
D.T.S: système tubulaire dense
GLY: glycogène
G: granules
E.C.: atmosp.périplaquettaire
S.C.C.S: syst.canaliculaire relié à la surface
D.B: corps denses

Aspects schématiques de sections plaquettaires vues au microscope électronique - coupe équatoriale - coupe sagittale (3)

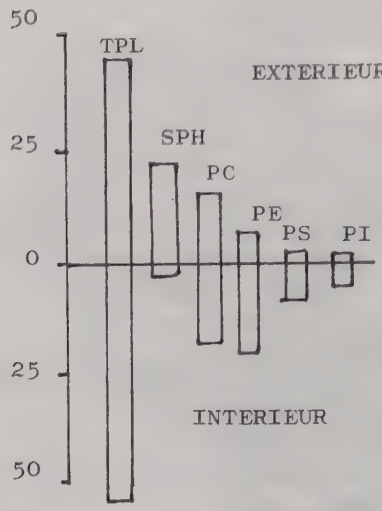


N°5



N°6

D.B : corps denses
D.T.S: système tubulaire dense
E.C: atmosp.périplaquettaire
G : granules
GLY: glycogène
S.C.C: syst.canaliculaire relié à la surface
M.: mitochondrie
M.T: microtubules



TPL: phospholipides totaux
SPH: sphingomyélines
PC: phosphatidylcholines
PE: phosphatidyl-éthanolamines
PS: phosphatidylsérines
PI: phosphatidylinositols

(5)

La zone sous membranaire est de structure plus complexe et comporte :

- un faisceau circonférenciel de micro-tubules situé en zone équatoriale. Il est sous-jacent à la membrane plasmique sans jamais la toucher. C'est lui qui est responsable de la forme discoïde de la plaquette.

- des microfilaments sous-membranaires de structure A.T.P asique contractile de type myofibrille: la thrombasthénin

- un système canaliculaire continu et sinueux relié à la surface extérieure de la cellule dont la structure particulière augmente considérablement la surface plaquettaire.

La zone périphérique est la zone de réception et de transmission des stimuli déclanchant la réponse plaquettaire et le lieu des réactions d'adhérence et d'agrégation.

3212 - <u>la zone sol-gel</u> :

C'est la matrice du cytoplasme plaquettaire. Elle contient plusieurs systèmes de fibres à différents stades

de polymérisation et un grand nombre de molécules qui n'ont pas toutes été localisées ni caractérisées.

Une partie importante du cytoplasme est occupée par les composants protéiques du mécanisme contractile, y compris la thrombasthénine, la tropomyosine, la troponine... Une protéine de transport de l'actine, semblable à celle décrite dans les macrophages alvéolaires et les neutrophiles est aussi présente dans les plaquettes.

Les filaments des deux zones interagissent pour stabiliser la membrane et les constituants cytoplasmiques dans les cellules non altérées. Ils produisent la force contractile pour l'émission des pseudopodes, les transformations internes et l'émission des produits de sécrétion dans les plaquettes activées.

3213 - la zone des organelles

Elle est composée de granules, de corps denses aux électrons, de mitochondries, des canaux du système tubulaire dense et d'éléments de tailles diverses constitués de glycogène et dispersés dans le cytoplasme. On trouve quelquefois un appareil de GOLGI dans les plaquettes.

32131) Les granules (3)(4) sont les organelles les plus nombreuses du cytoplasme; il pourrait s'agir d'un groupe hétérogène. A l'appui de cette théorie, nous trouvons des différences de taille, la présence de structures analogues à des microtubules dans certains granules et pas dans d'autres. On a pu prouver que certains granules étaient analogues aux peroxisomes trouvés dans de nombreux autres tissus.

Une minorité de granules contient des phosphatases

acides et des aryl-sulfatases.

L'ultracentrifugation permet aussi de séparer deux populations de granules: l'une d'elles contient du facteur plaquettaire IV et du fibrinogène tandis que l'autre possède seulement des hydrolases acides.

32132) Les mitochondries sont aisément identifiables du fait du reploiement en crête de la membrane interne.

32133) Les corps denses aux électrons ont un contenu fortement opaque qui est souvent séparé de la membrane limitante par un espace clair. Ce sont les sites de stockage d'A.T.P, A.D.P, sérotonine et calcium.

32134) Les canaux du système tubulaire dense sont étudiés dans cette partie bien qu'il s'agisse plutôt d'un système membranaire.

Le système tubulaire dense dérive du réticulum endoplasmique du mégacaryocyte initial, il est donc un fin réticulum endoplasmique résiduel. Il ne communique pas directement avec le système canaliculaire lié à la surface mais dans une ou deux zones de chaque plaquette les canaux des deux systèmes sont imbriqués et forment des complexes membranaires.

Toutes les substances stockées dans les corps denses sont secrétées dans le plasma avoisinant quand les plaquettes sont stimulées par les agents adéquats. Le système tubulaire dense concentre de manière sélective les cations divalents (calcium) ce qui suggère fortement une analogie avec le réticulum sarcoplasmique des cellules musculaires.

Le processus contractile est déclanché dans les plaquettes par une augmentation de la concentration cytoplasmique en calcium.

Une enzyme à activité péroxydasique est localisée de façon spécifique à l'intérieur des canaux du système tubulaire dense.

Des études récentes permettent de penser que c'est aussi le lieu (plaquettaire) de la synthèse de prostaglandines.

2EME PARTIE.

LA PHYSIOLOGIE DES PLAQUETTES

LEUR ROLE DANS LA COAGULATION SANGUINE

1 - Physiologie plaquettaire

Tant que l'endothélium vasculaire est intact, les plaquettes sanguines ne réagissent pas avec lui dans les conditions normales. Cependant, s'il se trouve lésé, les plaquettes sont attirées et peuvent y adhérer. C'est pour elles le point de départ d'un ensemble de phénomènes dont nous allons, dans un premier temps, envisager la chronologie et la description. Nous exposerons ensuite les données acquises et supposées qui permettent d'en éclairer les mécanismes.

11) Chronologie et description

111 - Attraction et adhésion plaquettaires

Elles sont induites par différents stimuli; le collagène est probablement la substance la plus efficace (12) (6). Mais les plaquettes sont également sensibles à l'exposition dans la lumière vasculaire de microfibrilles associées à de l'élastine ainsi qu'à la présence de membrane basale dénudée (6). L'A.D.P. présent dans les tissus lésés peut également induire l'adhésion puis l'agrégation plaquettaire.

112 - Changement de forme

Sur les lieux de la lésion se produit un

changement de forme: la plaquette sanguine perd son aspect discoïde pour devenir sphérique et émettre des pseudopodes. Ceci nécessite la mise en jeu de phénomènes contractiles au niveau du cytoplasme.

Notons que l'adhésion et la contraction paraissent être des processus relativement indépendants l'un de l'autre. En effet, les plaquettes peuvent devenir visqueuses et adhérer aux surfaces ou entre elles sans se contracter. D'autre part, le changement de forme et la contraction interne peuvent s'effectuer jusqu'à un certain degré sans s'accompagner d'une transformation visqueuse (nécessaire à l'adhésion).

113 - Sécrétion et agrégation

Dans une troisième étape se déroule un processus de sécrétion ("release reaction" des Anglo-Saxons) au cours duquel le contenu des granules de stockage est libéré par le biais du système canaliculaire de surface, dans le milieu extérieur. Les produits sécrétés convertissent l'ensemble des plaquettes mal assujetties en une masse de cellules fortement agglomérées. On parle d'agrégation primaire.

Selon les agents inducteurs il peut y avoir un effet sécréteur sélectif (7), par exemple :

- le collagène à forte dose, la thrombine libèrent les deux types de granules (6). On est donc amené à séparer en deux groupes les agents stimulants du processus sécrétoire :

. les inducteurs faibles qui comportent l'A.D.P. (issu initialement de la paroi lésée), la sérotonine, le collagène à faible dose, l'adrénaline (7)

. parmi les inducteurs forts se trouvent :

les enzymes protéolytiques telles que la trypsine, la thrombine (issue de l'activation de la prothrombine par la thromboplastine de la paroi vasculaire lésée), les fibres de collagène sous-endothéliales, les immuns-complexes, les acides gras à longue chaîne, les endotoxines, les virus, les composés intermédiaires de prostaglandines (7).

In vivo, les différents agents agrégeants peuvent agir en synergie (10), exemple: des concentrations d'A.D.P ou de thrombine qui par elles-mêmes n'auraient pas d'effet provoquent l'agrégation plaquettaire par leur action combinée. On trouve parmi les produits libérés par les plaquettes: de l'A.D.P, de la sérotonine, de l'héparine, du calcium, diverses enzymes lysosomales, un facteur dit "stimulant de la croissance des cellules musculaires lisses", des prostaglandines (8).

La release reaction s'accompagne de phénomènes biochimiques. On constate une stimulation du métabolisme glycolytique, une dégradation partielle de l'A.D.P., la formation d'A.M.P., l'activation de la thrombosthénine (2).

Plusieurs des produits émis provoquent une amplification du phénomène avec apparition d'une deuxième vague d'agrégation plaquettaire, on parle alors d'agrégation secondaire. Ajoutons que la thrombine convertit le fibrinogène transporté à la surface des plaquettes en un réseau de fibres de fibrine qui s'interconnectent avec les pseudopodes plaquettaires et étendent leurs mailles à l'intérieur de la masse plaquettaire, renforçant ainsi le clou hémostatique (12).

12) Mécanismes mis en jeu lors de l'activation plaquettaire

121 - Adhésion des plaquettes

L'adhésion des plaquettes semble être indépendante de tout phénomène de coagulation (elle ne parait pas dépendre du calcium ni être modifiée par l'héparine). L'adhésion plaquettaire peut être reproduite in vitro avec des particules inertes (encre de Chine) et on a supposé qu'il s'agissait d'un phénomène purement physique en rapport avec une différence de charge électrostatique.

L'adhésion plaquettaire au collagène, à des structures sous-endothéliales (microfibrilles ou membrane basale), est sous la dépendance du facteur de Willebrand et pourrait faire intervenir un récepteur au niveau de la membrane plaquettaire (2).

Certains auteurs ont proposé d'expliquer ainsi l'adhésion des plaquettes au collagène: il se formerait un complexe enzyme-substrat entre les glucosyl-transférases présentes au niveau des membranes plaquettaires et des groupes incomplets (c'est à dire déficients en glucose) galactosyl-hydroxylysine présents dans le collagène. A l'appui de cette théorie, citons la découverte selon laquelle la galactose oxydase abolit l'activité pro-agrégeante du collagène. En contre partie, les plaquettes peuvent aussi adhérer à un collagène dépourvu de groupes galactosyllysine (tel le collagène issu de la cuticule de l'Ascaris)(6).

Pour que l'agrégation puis la secrétion aient lieu, il semble nécessaire que la structure du collagène ait un certain degré de polymérisation (structure quaternaire). En effet, les plaquettes n'adhèrent pas à des éléments de tropocollagène (6).

122 - Changement de forme des plaquettes et émission de pseudopodes

L'actomyosine constitue à peu près 15 à 20% du total des protéines plaquettaires et plusieurs activités cellulaires lui ont été attribuées (6).

Non seulement elle intervient dans la formation des pseudopodes et dans l'agrégation, mais elle joue aussi un rôle dans la libération des granules et la rétraction du caillot (6).

La formation de pseudopodes est associée comme dans d'autres cellules à l'apparition de microfilaments ressemblant à de l'actine (6). Toutefois les implications fonctionnelles de la formation de pseudopodes ne sont pas toutes élucidées (6).

Les filaments ressemblant à de l'actine sont rarement observés dans les plaquettes au repos; il en est de même des filaments ressemblant à de la myosine qui ne sont généralement observés que dans les plaquettes activées.

Au repos, il y aurait dans le cytoplasme un pool d'éléments actiniques et myosiniques à l'état de monomères. Sous l'influence d'une stimulation ces éléments se polymériseraient en polymères filamenteux fonctionnels de haut poids moléculaire (6).

123 - Agrégation induite par l'A.D.P

L'A.D.P. issu au départ, des tissus lésés et des globules rouges (ADP extrinsèque) est un des éléments majeurs de l'agrégation plaquettaire (2). Après avoir induit la phase d'agrégation primaire il intervient dans la seconde phase d'agrégation

par libération, à partir des granules de stockage, des plaquettes de la phase initiale (A.D.P intrinsèque).

L'agrégation induite par l'A.D.P nécessite la présence de deux facteurs plasmatiques - dits cofacteurs de l'A.D.P - l'un thermolabile, l'autre thermostable. Le fibrinogène plasmatique présent dans l' atmosphère périplaquettaire (facteur thermolabile) joue certainement le rôle de cofacteur de l'A.D.P. (2).

Le nombre de plaquettes impliquées, l'extension de la transformation plaquettaire individuelle, la quantité de substances chimiques sécrétées, sont dépendants non seulement de la nature mais aussi de l'intensité des stimuli.

Cette notion est bien illustrée par le cas de l'A.D.P :

Quand l'A.D.P à des concentrations de 0,2 à 1,0 μM est ajouté à une suspension de plaquettes dans un agrégomètre, les cellules changent rapidement de forme, deviennent sphériques et s'agrègent (en présence de calcium et de fibrinogène)

- à des concentrations de 0,2 à 1 0 μM l'agrégation est réversible
- à des concentrations plus fortes l'A.D.P induit des réactions de sécrétion (la libération d'A.D.P endogène provoquant donc une seconde phase d'agrégation qui, elle, est irréversible)(6).

Il n'y a pas de mécanisme qui soit reconnu par tous, actuellement, pour expliquer comment l'A.D.P agrège les plaquettes.

Des études récentes suggèrent que l'A.D.P serait relié à un récepteur spécifique de la membrane plaquettaire. Il s'agirait d'une protéine contractile: l'actomyosine de

surface (6).

Deux théories ont été avancées pour expliquer comment l'interaction de l'A.D.P avec l'actomyosine de surface peut rendre la plaquette visqueuse et produire l'agrégation, mais aucune n'est démontrée.

Dans la première hypothèse, l'A.D.P inhiberait une ecto-ATPase, bloquant de ce fait une réaction de consommation d'A.T.P nécessaire au maintien de l'état plaquettaire normal (6).

Dans la seconde hypothèse, l'inhibition de l'A.T.P ase de membrane par l'A.D.P augmenterait le taux d'A.T.P membranaire jusqu'à un niveau de concentration critique nécessaire pour dissocier le lien entre la membrane et l'actomyosine. La réassociation des brins d'actine et de myosine dissociés, entre des plaquettes voisines, entrainerait la formation de ponts intra-moléculaires, ce qui expliquerait le phénomène d'agrégation (6).

Une autre enzyme membranaire, la nucléotide diphosphate kinase a été récemment préssentie comme médiateur de l'agrégation induite par l'A.D.P. Elle catalyse le transfert du phosphate terminal de l'A.T.P sur l'A.D.P. Son activité est diminuée par différents agents (dont l'A.M.P) qui bloquent également l'agrégation plaquettaire.

La réversibilité de l'agrégation induite par l'A.D.P serait liée à l'activation de l'A.D.P par un système enzymatique et plaquettaire où les adénylates kinases et les nucléotides phosphatases jouent un rôle essentiel (2).

124 - Agrégation induite par la thrombine le collagène et certaines prostaglandines

Les sites de fixation sur les plaquettes sont mal connus, mais il intervient ici un mécanisme commun différent de celui de l'A.D.P.

La thrombine, le collagène, certaines prostaglandines inhibent l'adénylcyclase membranaire, d'où diminution du taux de l'A.M.P cyclique qui est un facteur bloquant l'agrégation (et la "release reaction")(6).

Le taux d'A.M.P cyclique de base pourrait en effet moduler ces deux étapes de l'activation plaquettaire en contrôlant le stockage du calcium dans les éléments du système tubulaire dense ainsi que sa libération dans le cytoplasme (6).

Le Thromboxane A2, les endopéroxydes cycliques Pg G2 et Pg H2 issus du métabolisme de l'acide arachidonique membranaire provoquent une mobilisation du calcium intracellulaire.

Les processus contractiles et sécrétoires sont liés dans de nombreux types cellulaires à l'accroissement du calcium intracytoplasmique. Cependant, dans le cas des plaquette le rôle du calcium est complexe. En effet: la première phase d'agrégation plaquettaire ne peut apparaître en l'absence de calcium extracellulaire; par contre la secrétion peut avoir lieu (notamment lorsque les inducteurs sont de type fort) même en l'absence de calcium extracellulaire.

125 - Extrusion des granules ("release reaction")

Séparer les phénomènes qui interviennent dans l'agrégation de ceux qui se déroulent dans la "release reaction" est assez illusoire puisque nous avons vu que l'A.M.P cyclique joue un rôle inhibiteur, à la fois sur l'agrégation et sur la "release reaction" (6). De plus, le calcium intervient lui

aussi dans les deux phénomènes. La "release reaction" serait déclenchée par la libération de calcium d'un site de stockage intracytoplasmique. Cette source de calcium ne peut être les granules denses (lesquels stockent à peu près 80 % du calcium plaquettaire) puisque le contenu des granules denses est directement éliminé à l'extérieur de la cellule durant la "release reaction". C'est sans doute là encore le système tubulaire dense qui intervient (6).

13) Rôle des prostaglandines et du Thromboxane dans l'activation plaquettaire

Etant donné les variations possibles déjà signalées, dans l'intensité de la réponse plaquettaire aux différents stimuli,il est intéressant d'envisager la notion d'activation plaquettaire.

Elle correspond à la mise en jeu des différentes fonctions plaquettaires dans lesquelles les métabolites de l'acide arachidonique jouent un rôle fondamental.

131 - L'acide arachidonique (3)

Il se révèle être un constituant essentiellement membranaire.

6 % de l'acide arachidonique total est directement exposé sur la face externe de la plaquette.

Les 94 % restants sont répartis comme suit :

- feuillet interne : 54 %
- autres membranes intracellulaires : 40 %

L'acide arachidonique se trouve estérifié en quasi totalité dans les triglycérides, les esters de cholestérol et surtout les phospholipides. Les phosphatidylinositols représentent le phospholipide le plus riche. Cependant, si

l'on tient compte de l'abondance relative de chaque phospholipide, ce sont les phosphatidyléthanolamines qui représentent le réservoir le plus abondant en acide arachidonique (49%).

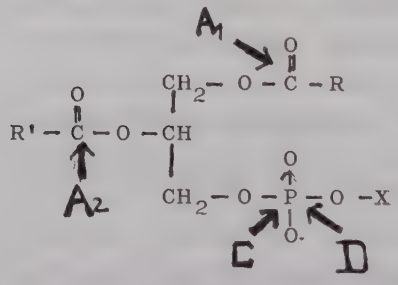
132 - Libération de l'acide arachidonique (3

L'acide arachidonique est libéré des phospholipides membranaires par un processus enzymatique activé par différents stimuli (Des agents très faibles suffisent, telle une légère stimulation mécanique).

1321 - Les phospholipases plaquettaires

Elles sont classées d'après leur mode d'action sur le phospholipide.

Mode d'action des différentes phospholipases



(4)

X : base azotée, inositol ou glycérol

1) les phospholipases A1 :

On en connait différents types. Elles sont stimulées par de faibles concentrations de calcium. Leur localisation est lysosomique, cependant une enzyme serait liée à la membrane plasmique, une autre serait localisée dans les mitochondries.

2) les phospholipases A2 :

Egalement stimulées par de faibles concentrations de Ca^{++}, elles sont localisées dans la membrane plasmique et les granules denses. La phospholipase A2 membranaire pourrait être localisée à la face interne de cette membrane.

3) les phospholipases C et les lysophospholipases de localisation cytosolique

4) les lipases plaquettaires dont une diglycéride lipase capable de libérer les deux acides gras à pH neutre.

On a également identifié des protéases calcium dépendantes.

1322 - Les phospholipases impliquées dans la libération de l'acide arachidonique

La théorie classique met en jeu la phospholipase A2 membranaire activée. Plusieurs hypothèses d'activation de la phospholipase A2 plaquettaire sont prises en compte:

1ère hypothèse:

Une brusque augmentation du Ca^{++} cytoplasmique par suite d'une diminution de l'A.M.P cyclique (stimulateur de la pompe à calcium du système tubulaire dense) serait responsable de l'activation de l'enzyme.

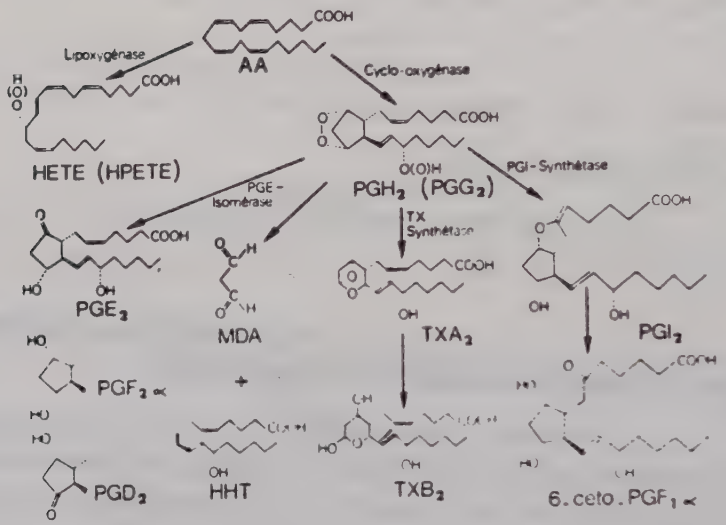
2ème hypothèse:

Elle fait intervenir un mécanisme d'activation protéolytique.

3ème hypothèse:

La mise en jeu de l'activité phospholipasique pourrait

Principales réactions de transformation de l'A.A dans les plaquettes et la paroi artérielle (4)



Abréviations :

A.A: acide arachidonique
P.G: prostaglandine
Tx : thromboxane
M.D.A: malondialdéhyde
H.P.E.T.E: acide 12 l hydroperoxy 5,8,10,14 eicosatétraénoïque
H.E.T.E : acide 12 l hydroxy 5,8,10,14 eicosatétraénoïque
H.H.T: acide 12 l hydroxy 5,8,10 heptadecatriénoïque

être liée à des changements conformationels au niveau de la membrane tels que des modifications de l'état de compression des phospholipides.

La libération de l'acide arachidonique serait aussi possible par l'action conjuguée soit d'une phospholipase A1 et d'une lysophospholipase, soit d'une phospholipase C plus une diglycéride lipase.

133 - Transformations de l'acide arachidonique (3)

1331) Les principales réactions de transformation de l'acide arachidonique dans les plaquettes et la paroi artérielle sont résumées dans le schéma ci-contre.

L'acide arachidonique, après libération des phospholipides membranaires est rapidement métabolisé en produits oxygénés.

La voie des prostaglandines fait intervenir la cyclooxygénase qui donne naissance aux endopéroxydes cycliques Pg G2 et Pg H2. Ils servent d'intermédiaires dans la synthèse des prostaglandines stables : Pg E2, Pg D2 et Pg F_{2x}. Les endopéroxydes cycliques sont également transformés sous l'action de la thromboxane synthétase en TxA2.

Le TxA2 est une molécule très instable qui s'hydrolyse rapidement en TxB2 stable. Une autre enzyme dont l'identité n'est pas établie peut également scinder la Pg H2 en deux corps : M.D.A et H.H.T.

L'acide arachidonique peut également être transformé par la lipooxygénase en HPETE qui est réduit en HETE.

1332) Les métabolites majeurs de l'acide arachidonique - leur rôle

Ils sont produits dans les plaquettes au cours de leur agrégation, notamment par la thrombine.

13321 - Le thromboxane A2 est l'agent proagrégeant le plus puissant connu actuellement, il stimule la plaquette productrice ainsi que les plaquettes les plus voisines (effet L.A.S.S (1)) (3)

Il est capable de faire se contracter les cellules musculaires lisses (effet R.C.S. (2)), d'où induction d'une vasoconstriction locale, élément important de la fonction hémostatique (3).

Sa demie vie est de 30 secondes en milieu aqueux à pH physiologique (8).

Cette molécule très instable se dégrade rapidement en thromboxane qui est inactif.

Le thromboxane A2 agirait par mobilisation du calcium intracellulaire; il se produirait également une inhibition de l'adénylcyclase et une stimulation de la guanylcyclase, phénomènes qui accompagnent les mobilisations de calcium.

13322 - Les endopéroxydes cycliques: prostaglandines G2 et prostaglandine H2 :

Ils auraient le même mode d'action que le thromboxan A2. Leur durée de demie vie est de 5mn à 37°C (8).

13323 - La prostaglandine E2 :

On pense que la prostaglandine E2 présensibilise les

(1) Effet L.A.S.S : Labile aggregation stimulating substance
(2) Effet R.C.S : Rabbit aorta contracting substance

plaquettes aux effets d'autres stimulants (endopéroxydes cycliques) et on a montré qu'elle potentialise les effets de l'A.D.P à de faibles concentrations, in vitro.

13324 - 3ème voie possible d'activation des plaquettes (3)

Deux voies sont donc connues qui conduisent à une activation des plaquettes :

- la voie de l'A.D.P
- la voie des métabolites de l'acide arachidonique. Cependant, tous les phénomènes observés lors de l'agrégation par la thrombine ou par certains virus ne peuvent s'expliquer ainsi, suggérant donc l'existence d'une troisième voie. Elle ferait intervenir un phospholipide appelé P.A.F (platelet activating factor).

14) Régulation de la fonction plaquettaire par la cellule endothéliale

141 - La prostacycline (3)

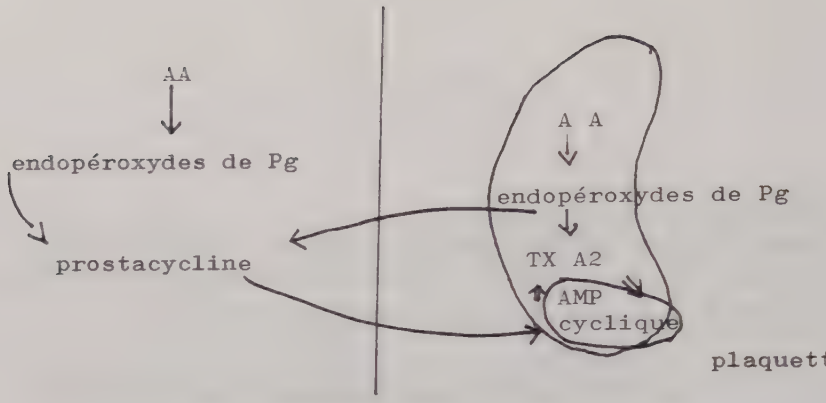
La prostacycline encore appelée PgI2 ou PgX est le produit majeur de transformation des endopéroxydes cycliques sous l'influence d'une Pg I synthétase dans les parois des artères et des veines de nombreuses espèces animales.

Il s'agit d'une molécule très instable d'une durée de demie vie inférieure à dix minutes (3) (elle serait de deux à trois minutes (8)).

La prostacycline se transforme alors en

6 - céto Pg F_{1x}

142 - Synthèse



La prostacycline est synthétisée par deux voies :

- une voie "endogène" à partir de l'A.A de l'endothélium vasculaire conduisant aux endopéroxydes cycliques PgH2 et PgD2 puis à la PgI2

- une voie "exogène", la synthèse de Pg I2 à l'intérieur de la paroi pouvant se faire également à partir des endopéroxydes cycliques libérés par les plaquettes.

143 - Mode d'action et rôle

Alors que le Tx A2 diminue le taux d'A.M.P cyclique, la prostacycline provoque une augmentation de ce taux (8).

L'A.M.P cyclique exercerait donc un effet régulateur sur les plaquettes en fonction des taux de Tx A2 et de Pg I2 (8)(1). La production de prostacycline apparait comme un mécanisme physiologique protégeant la paroi vasculaire d'un dépôt excessif d'agrégats plaquettaires (8)(1).

Une lésion vasculaire conduit à une adhérence plaquettaire mais pas nécessairement à la formation d'un thrombus. La prostacycline agit à des doses très faibles. Son rôle antiagrégeant expliquerait alors que les plaquettes puissent participer à la réparation des endothéliums sans pour autant donner naissance à un thrombus (8).

Le degré de gravité de la lésion est un déterminant important de la taille du thrombus. Ceci est en accord avec la distribution de prostacycline synthétase qui est abondante

dans l'intima et dont la concentration diminue progressivement de l'intima vers l'adventice. De plus, la concentration d'éléments pro-agrégeants augmente du subendothélium jusqu'à l'adventice (8).

Signalons enfin l'effet vasodilatateur de la Pg I2, agissant comme puissant myorelaxant de la cellule musculaire lisse, in vitro.

Chez le Chien anesthésié, la prostacycline induit une vasodilatation générale, que le produit soit administré par voie intra veineuse ou intra artérielle. (8)

2 - Rôle des plaquettes dans l'hémostase et la coagulation sanguine

Le rôle hémostatique des plaquettes se manifeste par le maintien de l'intégrité vasculaire, l'effet vasoconstricteur de certains de leurs composants et la place importante qu'elles tiennent dans la coagulation sanguine.

21 - Intégrité vasculaire (12)

Des images d'incorporation du contenu des plaquettes par les cellules endothéliales, renforçant ainsi la paroi vasculaire ont été observées au microscope électronique.

22 - Effet vasoconstricteur

Il a déjà été évoqué au cours de cet exposé. Rappelons que le Tx A2 est capable de provoquer la contraction des cellules musculaires lisses provoquant de ce fait une vasocontriction locale, facteur hémostatique non négligeable. Cet effet est appelé R.C.S (rabbit aorta contracting substance).

23 - Plaquettes et coagulation sanguine

La coagulation sanguine est la prise d'éléments figurés du sang à l'intérieur d'un réseau de fibrine issu de la polymérisation de protéines plasmatiques solubles de fibrinogène.

231 - Rappel chronologique et descriptif des trois temps de l'hémostase

2311) Temps vasculoplaquettaire

Après adhésion aux fibres de collagène dénudées et libération d'une partie de leur contenu, les plaquettes sont reliées entre elles par des ponts réversibles constitués d'A.D.P et d'ions Ca^{++}. Cet ensemble forme le clou hémostatique de HAYEN ou thrombus blanc.

2312) Temps de la coagulation plasmatique

L'agrégation devient irréversible par solidarisation des plaquettes entre elles par un réseau de fibrine.

La thromboplastine libérée par la paroi lésée transforme la prothrombine en thrombine dont l'effet pro-agrégeant a déjà été signalé.

Cette thrombine convertit également le fibrinogène transporté à la surface des plaquettes en un réseau polymérisé de fibrine.

2313) Fibrinolyse

Il apparait dans le sang une enzyme à action protéolytique: la plasmine. Son affinité pour la fibrine est

grande mais elle peut aussi détruire le fibrinogène et certains facteurs de la coagulation: les facteurs V et VIII.

La plasmine n'existe pas normalement à l'état libre, étant neutralisée par les antiplasmines circulantes. Elle est libérée par protéolyse sous l'action de kinases tissulaires (urokinases) d'une β globuline inerte: le plasminogène.

Signalons que les plaquettes possèdent une activité antiplasminogène et que les produits de dégradation du fibrinogène ont un effet antithrombine.

232 - Facteurs plasmatiques et facteurs plaquettaires - leur mise en jeu lors de la coagulation

2321) Les facteurs plasmatiques

* Le facteur I ou fibrinogène (5)

Il s'agit d'une protéine plasmatique soluble de poids moléculaire 340 à 370 000 synthétisée dans le foie.

Elle comporte trois paires de chaines polypeptidiques $\alpha . \beta . \gamma .$

La valeur plasmatique est de 250 à 400 mg/ml.

La libération de fibrinogène récemment synthétisé se fait en 4 heures et la demi vie du fibrinogène canin est de 2 à 4 jours.

A la suite d'une protéolyse limitée qui a lieu en présence d'ions Ca^{++}, le fibrinogène se polymérise en fibrine insoluble sous l'action du facteur XIII activé.

Chez le chien, la transformation du fibrinogène sous l'action de la thrombine conduit à la libération de trois fibrinopeptides au lieu des deux peptides (fibrinopeptide A de libération rapide et fibrinopeptide B de libération

PRINCIPAUX CARACTERES DES FACTEURS DE LA COAGULATION

(CHEZ L'HOMME)

FACTEURS	ACTIVITE		ABSORPTION	DEPENDANCE	POIDS
	dans le sérum	à la conservation	Ba SO4 AC $(OH)_3$	VITAMINE K	MOLECULAI
I	absente	stable	-	-	340000
II	absente	$\pm$ stable	+	+	72000
V	absente	labile	-	-	≠290000
VII	présente	stable	+	+	59000
VIII	absente	labile	-	-	
IX	présente	stable	+	+	55000
X	présente	stable	+	+	55000
XI	présente	stable	$\pm$	-	
XII	présente	stable	$\pm$	-	≠80000 $\pm$ 20000
XIII	absente	stable	-	-	340000

D'après J.CAEN, MJ.LARRIEU, M.SAMAMA (1975)(2)

lente) libérés normalement dans les autres espèces à la suite de la protéolyse partielle du facteur I.

* Le facteur II ou prothrombine (5)

C'est le précurseur plasmatique inactif de la thrombine. Chez le chien, cet élément est synthétisé par les cellules du parenchyme hépatique et la vitamine K joue un rôle essentiel dans ce processus.

Les chiots nouveau-nés ont une activité "prothrombinique" de seulement 40 % par rapport au taux observé chez l'adulte.

* Le facteur III ou thromboplastine ou prothrombinase (5)

* Le facteur IV : le calcium (5)

Il intervient à plusieurs niveaux dans le processus de coagulation

* Le facteur V ou mucoaccélérine (5)

On trouve ce facteur dans le plasma mais pas dans le sérum. C'est un composé très labile qui active la thromboplastine.

De nombreux animaux ont des taux de facteur V très élevés par rapport à l'Homme. Chez le Chien, le taux est de 10 à 16 fois supérieur au niveau de l Homme.

* Le facteur VI (5)

a été supprimé.

* Le facteur VII ou proconvertine (5)

Il est synthétisé par le foie sous la dépendance de la vitamine K. C'est un élément stable, présent à la fois

dans le plasma et dans le sérum et qui ne semble pas être lui-même un facteur activé.

* Le facteur VIII ou facteur antihémophylique A

Il se trouve dans le plasma mais pas dans le sérum.

Chez le Chien, le taux plasmatique serait de 4 à 9 fois supérieur à celui de l'Homme et la gestation accroitrait ce taux.

* Le facteur IX ou facteur antihémophylique B (5)

La forme inactivée est stable, la forme activée est labile. Il agit comme intermédiaire dans la conversion auto-catalytique de la prothrombine en thrombine. Dans sa forme activée, ce facteur de coagulation forme un complexe avec des phospholipides,du calcium, du facteur VIII, pour convertir le facteur X en facteur X activé.

Le taux en est bas chez les chiots nouveau-nés.

* Le facteur X ou facteur de STUART (5)

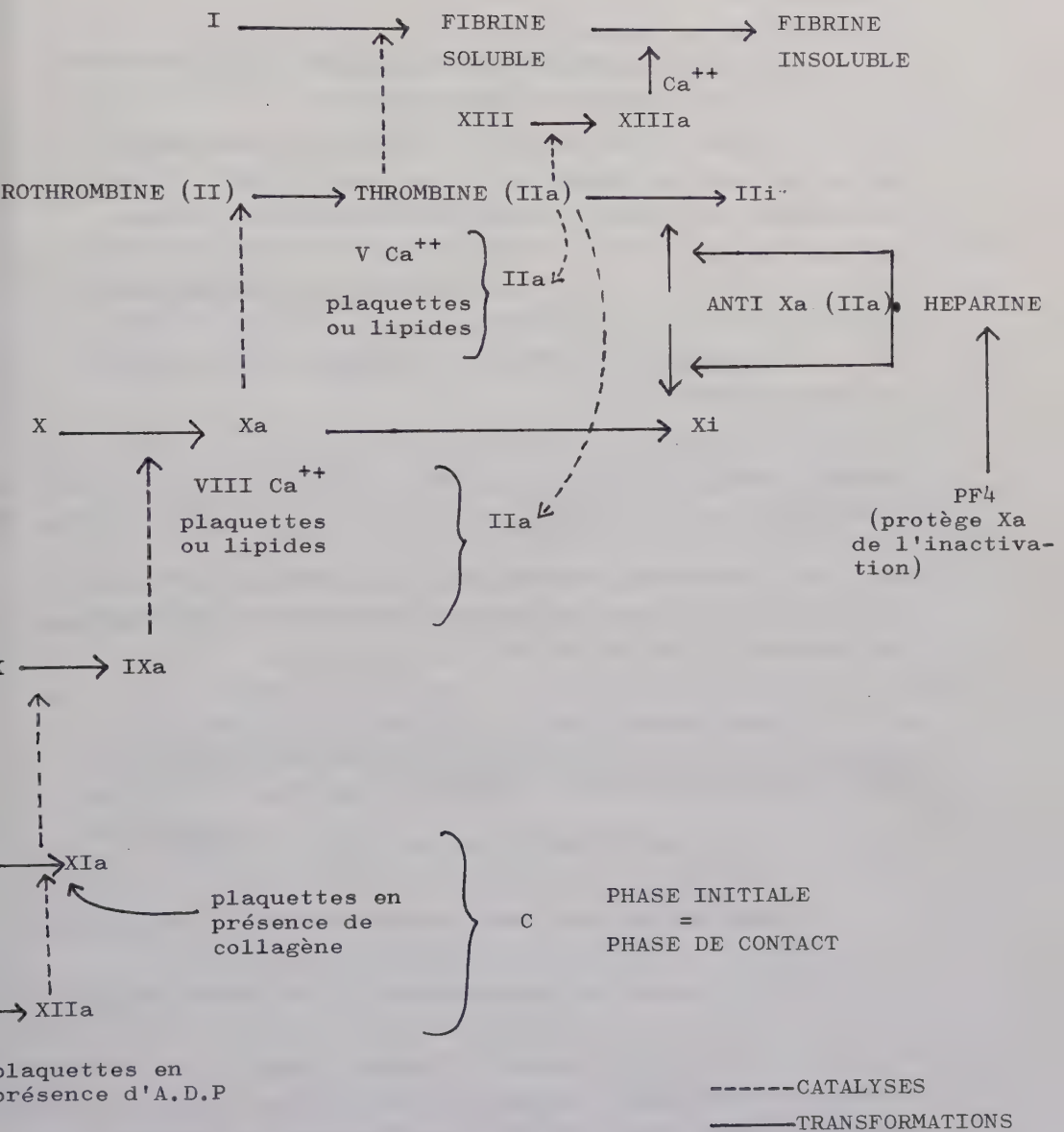
Il est présent dans le plasma. Dans la forme activée, il est également présent dans le sérum.

* Le facteur XI ou plasmathromboplastine antécédent P.T.A

Il joue un rôle dans les phases précoces de la coagulation, c'est à dire lors de la phase de contact. Son interaction avec le facteur XII forme un produit d'activation après exposition au collagène, à l'acide urique ou à une surface étrangère.

* Le facteur XII ou facteur de HAGEMAN (5)

Il active le facteur IX en facteur IX activé, en présence d'autres éléments.



(5) (6)

MISE EN JEU DES FACTEURS PLASMATIQUES LORS DE LA COAGULATION

* Le facteur XIII ou fibrinase ou facteur stabilisateur de la fibrine (5)

Ce facteur fonctionne comme une transamidase. Il est activé par la thrombine et les ions de Ca^{++}. Il intervient dans la polymérisation des monomères de fibrine.

2322) Les facteurs plaquettaires (11)

Le facteur n°2 est le facteur accélérateur de la fibrinoformation.

En ce qui concerne le facteur n°3 ou facteur prothromboplastique, il s'agirait d'une activité attribuée à la membrane lipoprotéique plutôt que d'une molécule précise (6)

Le facteur n°4 ou facteur antihéparine est une protéine de P.M 29000 relié à un transporteur (protéoglycan) qui protège le facteur Xa de l'inactivation.

2323) Mise en jeu des facteurs plasmatiques lors de la coagulation

Elle est illustrée par le schéma ci-contre

Analyse du rôle des plaquettes dans ce mécanisme :

Les plaquettes interviennent à différents niveaux :

- Lors de la phase de contact (étape C), elles catalysent l'activation du facteur XII en XIIa en présence d'A.D.P. Elles catalysent également la transformation du facteur XI en XIa en présence de calcium, mais elles peuvent aussi court-circuiter la première étape et activer directement le facteur XI en XI a.

- Etape B: en présence de calcium et de facteur VIII, les plaquettes ou peut-être seulement certains phospholipides plaquettaires servent d'adjuvants au facteur IXa qui catalyse la transformation du facteur X en Xa (étape qui, par ailleurs, peut être directement catalysée par la thrombine)

- Etape A: en présence de Ca^{++}, les plaquettes, ou certains de leurs phospholipides, servent là encore d'adjuvants à un facteur plasmatique: le facteur V. Ce dernier catalyse la transformation de la prothrombine (facteur II) en thrombine (facteur IIa) qui active elle-même le phénomène.

Au niveau de l'étape B, les plaquettes ont cependant un rôle plus complexe encore du fait de l'émission dans le milieu extérieur du facteur plaquettaire 4. Celui-ci servirait à protéger le facteur Xa de l'inactivation par différents inhibiteurs plasmatiques en neutralisant l'héparine circulante qui stimule l'action de ces inhibiteurs.

Les différentes étapes activées par les plaquettes le seraient par le biais du facteur plaquettaire 3, élément de nature membranaire (donc lipoprotéinique) développant une activité catalytique de surface plutôt que molécule bien individualisée.

3EME PARTIE

CONCEPT D'AUTO-IMMUNITE et PATHOGENIE des MALADIES AUTO-IMMUNES

1 - DEFINITION

Il s'agit de manifestations immunologiques que développe un individu vis à vis de ses propres constituants.

Il existe des réponses auto-immunes de type humoral et de type cellulaire.

Les réponses de type humoral sont représentées par des auto-anticorps dirigés contre des déterminants spécifiques d'un organe ou des déterminants présents dans de nombreux organes (1).

Les réponses de type cellulaire sont représentées par des infiltrats tissulaires constitués essentiellement de lymphocytes T.

2 - THEORIES DE L'AUTO-IMMUNITE

La grande diversité des états auto-immuns incite à conclure que les mécanismes inducteurs des réactions auto-immunes sont probablement multiples. D'autre part, différents facteurs favorisent l'expression de ces maladies :

21 - Facteurs favorisant l'auto-immunité

211) l'âge

Les maladies auto-immunes atteignent souvent des sujets relativement jeunes (1). Chez l'Homme la fréquence des

auto-anticorps détectés dans le sérum augmente beaucoup avec l'âge (4) (1).

212) le sexe

Le sexe féminin est le plus fréquemment atteint, cette particularité porterait sur des différences d'imprégnation hormonale (1). En effet, la castration atténue la maladie des souris N.Z.B* femelles et aggrave celle des mâles (4).

213) les facteurs génétiques (4) (5)

On retrouve souvent des malades ou des latents dans la parenté immédiate d'un individu atteint de maladie auto-immune. Les modalités du contrôle génétique polygénique de ces maladies sont encore mal connues mais il existerait deux catégories de gènes :

- un groupe de gènes contrôlant la condition auto-immune
- un autre groupe contrôlant la spécificité des auto-anticorps (1)(6)

214) rôle d'infections virales ou bactériennes

En ce qui concerne le LEAD, les études sur lignées ont conduit à suggérer une transmission de la maladie des parents aux descendants par un mécanisme extra-génétique, telle qu'une transmission verticale ou horizontale d'un agent infectieux (5).

En effet: même dans les lignées où un seul parent initial est atteint de la maladie, la fréquence des tests de cellules L.E positif chez les descendants consanguins et la lignée de croisement est très supérieure aux schémas

* N.Z.B : lignée New Zealand Black

d'héritage génétique classiques.

L'association étroite de lymphocytes, de particules virales de type C et d'anticorps anti-ADN observée dans les expériences de transmission suggère le rôle étiologique d'un virus dans le LEAD (5).

Il n'existe cependant pas de certitude quant aux mécanismes impliqués, l'action des virus pourrait se situer au niveau de l'antigène,

- par un effet adjuvant après stimulation non spécifique des lymphocytes

- par l'existence d'une antigénécité croisée entre les virus et les tissus de l'hôte

- par libération sous l'influence du virus d'une grande quantité d'antigènes séquestrés

- par fixation du virus sur la membrane cytoplasmique. Celui-ci pourrait rendre antigéniques les cellules de l'hôte

- soit en induisant la synthèse d'un nouvel antigène par les cellules

- soit en modifiant partiellement la structure antigénique d'un constituant cellulaire.

L'action du virus pourrait avoir lieu au niveau du système immunitaire en modifiant le fonctionnement normal des cellules qui interviennent dans la réponse immune, ou bien en agissant sur le système régulateur constitué par le thymus (4).

215) rôle de déficits immunitaires

Diverses expérimentations ont démontré le rôle d'un déficit qualitatif ou quantitatif des fonctions régulatrices des lymphocytes thymo-dépendants dans l'établissement

d'un état auto-immun.

La thymectomie provoque une augmentation du taux et une aggravation des maladies auto-immunes expérimentales. Le thymus apparait donc comme un organe ayant sous son contrôle les réactions auto-immunes (1)(3).

D'autre part, chaque fois que le thymus et le système thymodépendant sont intacts, l'auto-immunisation ne peut se manifester ou, si elle le fait, c'est avec une faible intensité et une durée brève.

22 - Les théories de l'auto-immunité

Plusieurs théories ont été proposées qui ne s'excluent pas mutuellement dans la mesure où l'auto-immunité relève certainement de plusieurs mécanismes d'induction.

221) théorie des clones interdits (1)

Selon BURNET, à chaque déterminant antigénique correspondrait une famille ou clone de cellules lymphoïdes. Chez le sujet normal, le thymus élimine les clones reconnaissant les auto-antigènes durant la période foetale. Cependant, un certain nombre d'auto-antigènes sont "séquestrés", c'est à dire protégés de tout contact par une barrière cellulaire (cristallin) ou par le fait d'une apparition tardive dans le développement (spermatozoïdes).

Ces antigènes n'entreront donc pas en contact avec les clones lymphocytaires correspondants et ne seront pas "interdits".

La libération accidentelle (traumatisme) de ces antigènes dans la circulation s'accompagne d'une véritable maladie auto-immune.

Cependant, cette théorie n'explique que quelques

cas et ne rend pas compte de maladies telle la maladie auto-immune par la thyroglobuline, les antigènes nucléaires ou érythrocytaires.

Elle n'explique pas non plus le rôle d'un facteur génétique familial ni le rôle favorisant de l'âge.

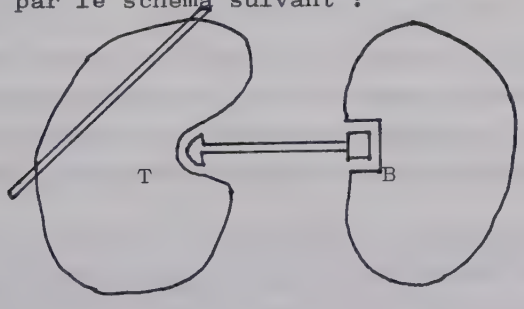
Contre cette théorie également: la facilité avec laquelle on peut induire la formation d'auto-anticorps chez les animaux normaux en leur injectant des auto-antigènes modifiés.

Des cellules B auto-réactives sont donc présentes dans un état non fonctionnel chez les sujets normaux.

222) tolérance portée par les lymphocytes T (4)

La notion de tolérance peut être définie comme l'absence de production d'anticorps en réponse à une stimulation.

Les antigènes (exo et auto-antigènes) portent un déterminant type haptène, reconnu par les cellules B et un déterminant type porteur reconnu par les cellules T illustrés par le schéma suivant :



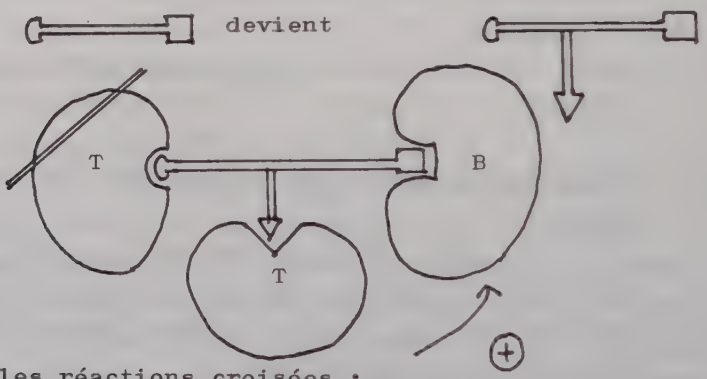
Lorsque les trois éléments sont en présence, la tolérance des cellules T spécifiques du porteur s'exprime en empêchant l'activation des cellules B présentes spécifiques de l'haptène. La transformation des lymphocytes B en

cellules productrices d'anticorps est nulle ou très faible.

Dans cette hypothèse, le développement d'une réponse auto-immune n'est possible que dans des conditions affectant la tolérance élective des cellules T.

Deux situations sont envisageables :

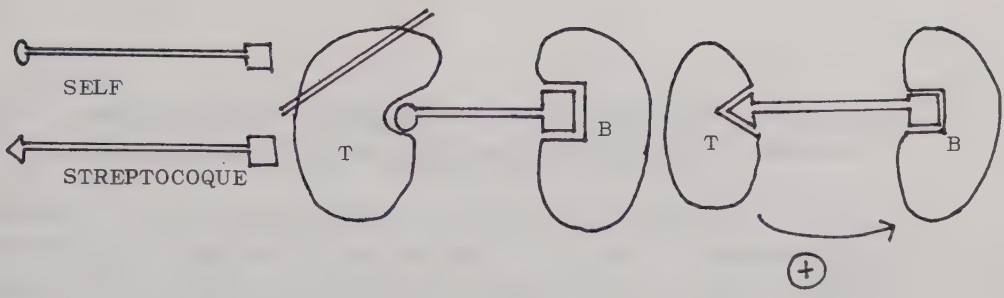
- la modification de la molécule antigène par adjonction d'un groupement chimique, l'antigène peut recruter une cellule T spécifique du nouveau porteur qui, lui, stimulera la cellule B.



- les réactions croisées :

Certains streptocoques qui ont des déterminants antigéniques communs avec le coeur et le rein provoquent des maladies qui s'accompagnent de la production d'auto-anticorps anti-coeur et antimembrane basale glomérulaire.

Les cellules T spécifiques du porteur streptocoque vont pouvoir se substituer aux cellules T spécifiques tolérantes du porteur self et activer ainsi les cellules B spécifiques des déterminants communs (haptène).



Cette hypothèse est compatible avec l'observation selon laquelle la plupart des maladies auto-immunes semble dûe à l'action pathogène des anticorps produits par les cellules B et non à l'action directe des cellules T. Les modifications de la molécule d'auto-antigène peuvent être comparées aux modifications subies par la membrane érythrocytaire en présence de mycoplasma pneumoniae (chez l'Homme), les pneumopathies dûes à ce mycoplasma s'accompagnant de la production d'agglutinines froides (auto-anticorps anti-I).

Le mécanisme des réactions croisées explique les maladies auto-immunes obtenues après injection d'extraits d'organes hétérologues, les déterminants spécifiques de l'espèce hétérologue servant de porteur.

Cependant, cette rupture de la tolérance élective des cellules T ne peut rendre compte de tous les phénomènes observés; par exemple de l'apparition simultanée de différents types d'anticorps au cours d'une maladie auto-immune. Elle n'explique pas non plus pourquoi on constate l'existence de deux groupes de maladies auto-immunes: les maladies spécifiques d'organes et celles qui ne le sont pas.

223) perte de la fonction suppressive normale des lymphocytes T (4)

Les cellules B qui sont responsables de la synthèse des immunoglobulines agissent soit après stimulation directe par contact avec l'antigène si celui-ci est très puissant,

soit par coopération avec certaines cellules T dites "helpers" si l'antigène est plus faible.

A côté de cette population de cellules T.helpers qui coopèrent avec les cellules B pour augmenter la réponse immunitaire, il existe une population de cellules T "suppressives". Ces dernières sont capables d'inhiber la fonction des cellules B et semblent agir très tôt dans la réponse immunitaire. Elles seraient impliquées dans les premiers moments de l'induction de la tolérance.

Les cellules T suppressives préviennent le développement de l'auto-immunité chez les animaux normaux en reconnaissant tous les déterminants idiotypiques* des immunoglobulines anti-soi exprimés à la surface des cellules B.

On reconnait à la désorganisation du système répresseur une importance primordiale dans le cadre des maladies auto-immunes (3).

Dans un certain nombre de cas, l'entretien du processus (d'auto-immunation) fait intervenir l'action d'auto-anticorps, notamment anti-ribonucléoprotéines qui peuvent pénétrer dans les lymphocytes T répresseurs et contribuer à perpétuer les manifestations d'auto-immunité pathologiques.

La théorie qui découle de l'existence de ces types de cellules T est donc la suivante: on pense qu'il existerait un déficit des cellules T suppressives expliquant l'emballement des cellules B. Ce déficit a sans doute pour origine une carence du thymus lui-même (1) qu'elle soit héréditaire

* déterminant idiotypique: déterminant antigènique des fragments Fab de différentes spécificités

ou induite et se traduit par la capacité pour les cellules B de produire des immuno-globulines anti-soi.

Cette théorie a l'avantage de mieux expliquer l'association de différentes catégories d'auto-anticorps lors de certaines maladies auto-immunes témoignant d'une dérépression plus ou moins globale des clones B auto-réactifs.

224) Stimulation "non spécifique" des cellules B pré-existantes (4)

Une autre explication du développement des auto-anticorps serait une stimulation possible d'une population pré-existante de lymphocytes B capable de produire des anticorps anti-soi.

A la suite d'une activation globale des cellules T, il y aurait une activation secondaire également globale des cellules B quelle qu'en soit la spécificité.

A l'appui de cette théorie, signalons que les maladies expérimentales auto-immunes sont généralement obtenues par adjonction à l'antigène de l'adjuvant de FREUND. Or, il a été récemment montré que l'un des effets de l'adjuvant de FREUND est d'activer "non spécifiquement" l'ensemble des cellulesT.

3 - PATHOGENIE DES MALADIES AUTO-IMMUNES (7)

Les maladies auto-immunes peuvent être classées comme des réactions d'hypersensibilité, l'hypersensibilité étant définie comme une réaction immunitaire produisant des désordres pathologiques sévères caractérisés par des altérations tissulaires sous l'effet d'agents vaso actifs formés dans certaines conditions au cours de la combinaison des anti-

corps et des antigènes.

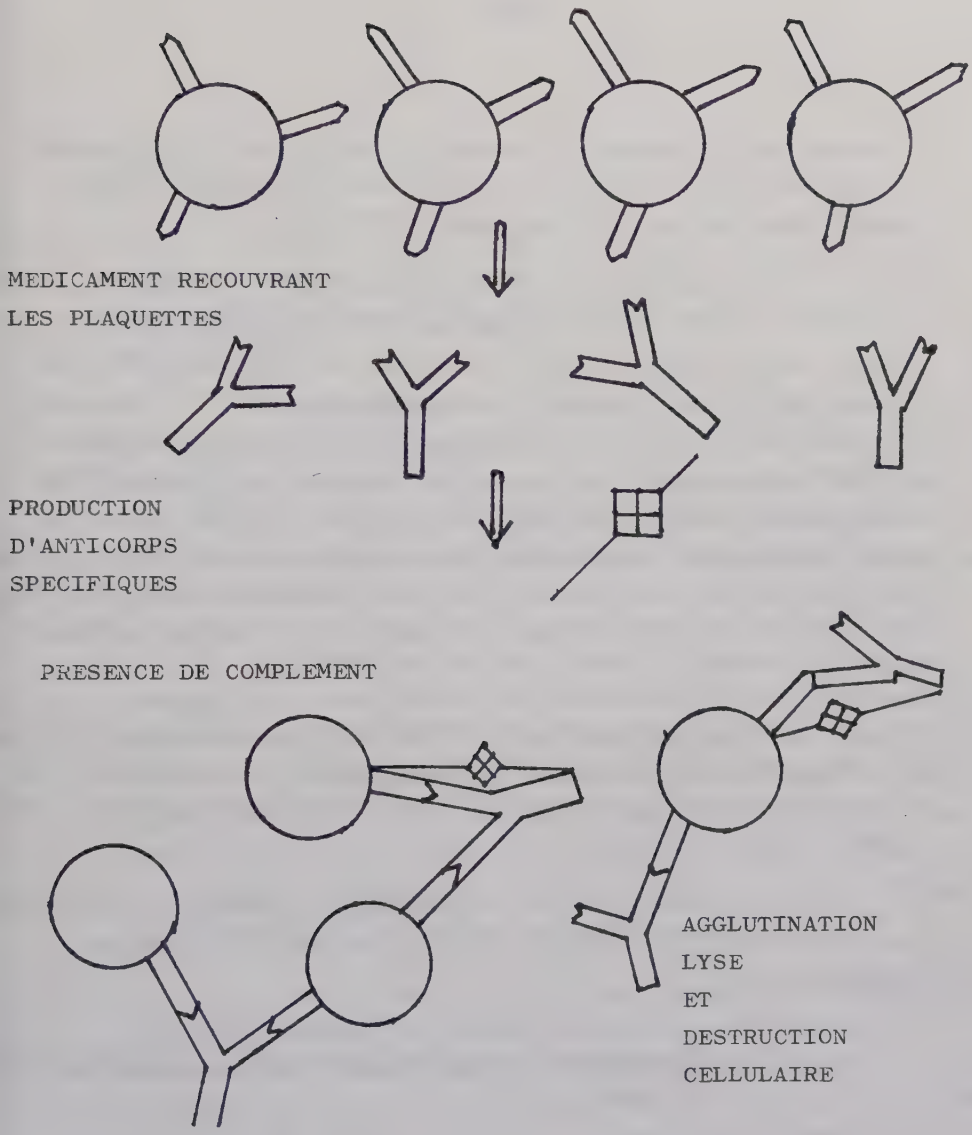
31 - Réactions cytolytiques ou cytotoxiques = réactions d'hypersensibilité de type 2 (7)

Elles concernent les antigènes associés aux cellules.

Les réactions de ce type sont produites par un composant antigènique qui, soit fait partie des cellules, soit est très étroitement lié à elles.

Les anticorps contre de tels antigènes entrainent des effets cytotoxiques ou cytolytiques en engageant habituellement le système du complément.

Il existe de nombreux exemples de ce type concernant les érythrocytes (anémie hémolytique auto-immune), les leucocytes ou les plaquettes (purpura induit par le SEDORMID (N.D) ou apronalide)(7) (8). Au cours de cette affection, les plaquettes sont détruites par les anticorps dirigés contre un complexe fait du médicament et des structures de surface de la cellule.



32 - Réactions dues aux complexes immuns toxiques ou réactions de type 3 (7)

Les complexes antigène - anticorps sont responsables des lésions observées dans le LEAD au cours duquel on constate la présence de lésions cutanées et de glomérulonéphrite. Les nombreux signes cliniques semblent résulter

d'artérites, de dépôts d'immuno-globulines et de complément formant un complexe avec l'A.D.N (complexe aisément démontrable dans les capillaires glomérulaires).

Par combinaison de l'antigène avec les anticorps circulants, il se forme des précipités à l'intérieur et autour des petits vaisseaux sanguins. Il s'en suit une inflammation et parfois des blocages mécaniques des vaisseaux avec diminution de la circulation dans les tissus adjacents. Le dépôt des immuns-complexes s'accompagne de l'activation du complément, d'où les réactions inflammatoires observées après libération d'histamine. Les enzymes protéolytiques sont libérées par les polynucléaires; il s'en suit une altération des tissus adjacents et une activation des kinines plasmatiques.

Dans les lignées de souris les plus aptes à développer des glomérulonéphrites à immuns complexes, des anticorps à faible affinité - incapables d'éliminer effectivement l'antigène - sont produits.

Les complexes ont une structure lâche et ne peuvent pas être captés efficacement dans la circulation par les phagocytes.

33 - Réactions à médiation cellulaire (ou réactions de type 4) (7)

Dans un certain nombre de maladies auto-immunes, on constate le développement d'une immunité à médiation cellulaire, révélée par l'apparition d'une hypersensibilité de type retardé à la suite de tests cutanés utilisant les antigènes tissulaires. Au point d'injection se développe une réaction inflammatoire en 24 à 48 heures. Le lieu de l'injection est infiltré par un grand nombre de cellules mononucléées groupées pour la plupart autour des petits

vaisseaux.

La majorité d'entre elles sont des cellules non engagées dans la réponse immunitaire mais recrutées par des lymphokines solubles synthétisées par les lymphocytes sensibilisés.

Les lymphokines sont des glycoprotéines encore mal individualisées auxquelles on reconnait plusieurs rôles. Non seulement, elles recrutent sur le lieu de la réaction les cellules lymphoïdes non sensibilisées, mais elles les retiennent sur place et les activent pour amplifier la réponse immunitaire.

La thyroïdite auto-immune illustre ce type de pathogénie. La maladie peut être transférée à des animaux histo-compatibles par l'injection de cellules lymphoïdes d'un animal malade. Les lymphocytes sensibilisés endommageraient la surface cellulaire des acini de la glande thyroïde permettant aux anticorps cytotoxiques (souvent présents dans le sérum des malades) de pénétrer dans la cellule et de réagir avec les antigènes intra-cellulaires.

Dans le cadre du purpura thrombocytopénique immunologique humain, des méthodes de détection in vitro ont été utilisées par CLANCY (2) pour mettre en évidence le rôle pathogénique d'une hypersensibilité de type retardé et montrer que des facteurs humoraux circulants peuvent bloquer les mécanismes de l'immunité cellulaire.

Dans 9 cas sur 10, les plaquettes autologues inhibent la migration des leucocytes (alors que la migration de leucocytes issus d'individus normaux n'est pas modifiée par le sérum d'individus atteints de purpura thrombocytopénique immunologique).

Dans 6 cas sur 7, la stimulation lymphocytaire par des plaquettes autologues était significative. Le facteur sérique bloquant appartenait à la classe des Ig G.

4EME PARTIE

LE PURPURA THROMBOCYTOPENIQUE IMMUNOLOGIQUE CHEZ L'HOMME

1 - INTRODUCTION

Le purpura thrombocytopénique immunologique (P.T.I) représente une maladie bien connue chez l'Homme quoique rare. Ce syndrome a pu également être mis en évidence chez nos animaux domestiques (Chien, Cheval...).

Comme le soulignent DODDS et WILKINS, des études menées sur l'animal pourraient apporter de précieuses informations sur les mécanismes de base de ces phénomènes auto-immuns.

Réciproquement, une bonne connaissance de la maladie humaine pourrait permettre au vétérinaire de mieux aborder cette entité clinique peu fréquente.

Nous ne pouvons que tirer profit des méthodes de raisonnement et de l'amélioration des techniques de laboratoire qui, depuis les expériences fondamentales de HARRINGTON en 1951 ont conduit les médecins à cerner avec de plus en plus de précision les éléments leur permettant de poser un diagnostic de certitude.

Après quelques éléments d'historique et d'étiopathogénie, nous nous proposons d'exposer succintement les symptômes des différentes entités cliniques reconnus chez l'Homme et ce, afin d'insister sur le diagnostic, le pronostic et le traitement de cette affection.

2 - DEFINITION

Le P.T.I est un syndrome hémorragique comprenant diverses entités qui ont en commun plusieurs caractéristiques :

- réduction importante du nombre des plaquettes circulantes
- taux de mégacaryocytes de la moelle osseuse constant ou légèrement augmenté
- durée de vie des plaquettes raccourcie
- absence de splénomégalie
- mise en évidence, directe ou indirecte d'un mécanisme pathogénique d'ordre immunologique.

3 - HISTORIQUE

En 1951, HARRINGTON démontra la présence d'un facteur plaquettaire humoral chez des patients atteints d'un P.T.I.

L'injection du plasma des malades à des receveurs sains provoquait une chute brutale du taux plaquettaire chez ces derniers.

Ce facteur présentait les caractères physicochimiques d'une immunoglobuline. Il pouvait être adsorbé par des plaquettes autologues ou homologues.

D'autres auteurs devaient par la suite, confirmer et amplifier cette démonstration classique :

- en 1963-1966 DAMESHEK (8) et BALDINI (2)(3) décrivent les diverses entités cliniques; BALDINI souligne l'intérêt des études de durée de survie plaquettaire (2).

- en 1969-1972 Mc MILLAN effectue des études

portant sur la synthèse in vitro d'immunoglobuline par du tissu splénique de patients atteints de P.T.I. (18).

- en 1969 KARPATKIN et SISKIND réalisent un test de mesure basé sur l'activation du facteur plaquettaire 3 qui constitue un réel progrès. Il a permis de démontrer la présence d'une activité plaquettaire chez 73% des patients atteints d'un P.T.I, d'autre part son utilisation a amené ses auteurs a considérer la rate comme un lieu de synthèse d'anticorps antiplaquettaires (17).

- en 1970 PIESSENS constate que les plaquettes d'un patient atteint de P.T.I induisent la transformation blastique de lymphocytes autologues en culture. Cette observation représente une nouvelle approche dans la mesure des mécanismes immunologiques de la maladie et suggère que l'immunité à médiation cellulaire joue un rôle (12).

- en 1972 CLANCY, JENKIN et FIRKIN rapportent la présence de défauts qualitatifs plaquettaires chez certains patients atteints de P.T.I. (6)

4 - ETIOPATHOGENIE

41 - Caractère auto-immun du syndrome

La question se pose de savoir si le P.T.I doit être considéré comme une maladie auto-immune.

De nombreux éléments vont dans ce sens notamment en ce qui concerne la forme chronique. La maladie a tendance à être auto-entretenue, elle apparait plus fréquemment dans le sexe féminin, le facteur plasmatique anti-plaquettaire présente les caractéristiques d'un anticorps. Enfin, la maladie

peut accompagner des désordres lymphoprolifératifs auto-immuns tels que les anémies hémolytiques (Syndrome de FISHER-EVANS), ou le lupus érythémateux disséminé. Elle répond généralement bien à la corticothérapie (2).

Toutefois, la maladie ne présente pas les différentes manifestations qui accompagnent les désordres immunologiques tels que une hyper-gamma-globulinémie, un taux de complément abaissé, des signes de plasmocytose, d'éosinophilie ou une hyperplasie du tissu lymphoïde et des dépôts fibrinoïdes.

Dans la maladie aiguë, on constate parfois une plasmocytose et une éosinophilie (2).

42 - Nature et rôle de l'anticorps antiplaquettaire

La pathogénie de cette affection est encore obscure et donne lieu à diverses hypothèses. Le facteur antiplaquettaire, qui se révèle être le plus souvent une Ig G de coefficient de sédimentation 7 S capable de traverser le placenta (2), est de toute évidence adsorbé à la surface des plaquettes (test de DIXON et ROSS basé sur la consommation d'autoglobuline)(13).

Les plaquettes recouvertes d'immunoglobulines subissent une destruction prématurée; leur durée de vie, très raccourcie passe de 8 jours à quelques jours voire quelques heures.

Les plaquettes faiblement recouvertes d'anticorps sont phagocytées par le système réticulo-histiocytaire de la rate tandis que celles qui sont fortement recouvertes d'anticorps subissent une destruction hépatique.

Par ailleurs, la rate est également un des lieux

de synthèse de ces anticorps, comme l'ont montré les expériences de synthèse d'immunoglobulines in vitro de Mc.MILLAN à partir de tissu splénique de patients atteints de P.T.I. La production d'immunoglobulines était 5 fois supérieure à celle de tissus de contrôle non stimulés (8).

Ces anticorps peuvent être opsonisants, les immunoglobulines recouvrant la surface antigénique rendent cette dernière plus sensible à la phagocytose. La nature $\gamma 1$ et $\gamma 3$ des immunoglobulines antiplaquettaires a été montrée dans certains cas (13).

Ils peuvent être cytolytiques, soit directement, soit indirectement, faisant intervenir une réaction d'hypersensibilité de type 2 dont il a déjà été question plus haut. C'est le cas des P.T.I secondaires à des médicaments.

Citons à nouveau l'exemple du SEDORMID, ce médicament attaché à la paroi cellulaire de la plaquette forme avec celle-ci un complexe qui induit une réponse dirigée contre le médicament entrainant ultérieurement la destruction des plaquettes et le syndrome de purpura (20).

Ce peut être également le cas des purpuras secondaires à des affections virales (viroses respiratoires), puisque différentes études suggèrent fortement que les plaquettes sanguines peuvent transporter passivement des virus dans la circulation (2)(3).

On a constaté l'association de désordres plaquettaires qualitatifs et quantitatifs. Il est probable que l'anticorps antiplaquettaire est responsable ou participe à l'apparition de ces défauts qualitatifs (6).

Sur un échantillon de malades présentant un P.T.I chronique, la plupart avaient une agrégation plaquettaire

anormale avec comme agents agrégeants, l'adrénaline, le collagène, l'A.D.P, la thrombine. Ces défauts sont reliés à une libération diminuée de l'ADP intrinsèque nécessaire à la seconde vague d'agrégation plaquettaire et à l'agrégation plaquettaire irréversible.

Dans certains cas, l'anticorps serait insuffisant pour induire une thrombocytopénie mais suffisant pour provoquer des défauts fonctionnels chez les plaquettes. Cependant, il n'a pas été trouvé de corrélation entre le titre d'anticorps anti-plaquettaires et l'existence ou la sévérité du défaut qualitatif de la plaquette.

Selon KARPATKIN et LACKNER, ce désordre est beaucoup plus répandu que le classique P.T.I.

43 - Rôle possible de complexes immuns (3)

Certains évoquent le rôle pathogénique possible de complexes immuns adsorbés à la surface des plaquettes, notamment au cours de certaines thrombocytopénies iatrogènes.

44 - Rôle de l'immunité à médiation cellulaire

Bien que l'auto-anticorps puisse léser les plaquette in vitro et induire une thrombocytopénie lorsqu'elles sont transfusées à des receveurs normaux, l'intensité des symptômes de la maladie n'est pas directement parallèle au titre d'anticorps testé par la technique de libération du facteur plaquettaire 3.

D'autres éléments peuvent intervenir et parmi eux, les manifestations d'une hypersensibilité de type retardé comme le suggèrent les expériences de CLANCY (5).

5 - LESIONS

51 - Lésions cellulaires

511) les mégacaryocytes

On constate une altération de la morphologie et une variation du nombre. Le nombre augmente avec une relative élevation du taux des formes immatures (2).

Le cytoplasme et le noyau présentent des signes de dégénérescence: vacuolisation, manque de formation de granules et absence de bourgeonnement plaquettaire (2).

Les modifications des mégacaryocytes ne sont pas en relation directe avec la sévérité de la maladie (modifications peu visibles dans la forme aiguë).

On a pu trouver des anticorps plaquettaires adsorbés sur les mégacaryocytes, ce qui ne doit pas surprendre, ces cellules ayant forcément une communauté antigénique avec leurs cellules-filles: les plaquettes. L'auto-anticorps affecte sans doute la fonction des mégacaryocytes; on constate que ceux-ci, bien qu'en plus grand nombre qu'à l'accoutumée, sont incapables ou peu capables d'assurer une production compensatrice de plaquettes.

512) Plaquettes phagocytées au niveau de la rate et macrophages spléniques

Les histiocytes présentent des modifications caractéristiques dans la rate des malades atteints de P.T.I après splénectomie. Cet aspect particulier n'est pas observé chez des patients présentant des désordres hématologiques sans rapport avec le P.T.I. A l'intérieur de ces macrophages, les plaquettes subissent une digestion. L'examen histologique révèle au premier stade une certaine perte de définition des

organelles plaquettaires et un assombrissement du cytoplasme cellulaire généralement à sa périphérie.

Au deuxième stade, la membrane externe devient moins nette; on constate la présence de zones osmophiles de taille variable ainsi que de nombreuses vacuoles.

Au troisième stade, on ne voit finalement plus que des masses denses osmophiles de nature lipidique.

La plaquette peut subir un autre type de modification conduisant à des figures myéliniques. La lyse in vitro ne donne pas du tout ce type d'image myélinique, ce qui suggère que les plaquettes seraient détruites dans les cellules phagocytaires par la combinaison des deux systèmes enzymatiques.

Chez certains patients prédominent les images de gouttelettes lipidiques, chez d'autres, ce sont les images myéliniques qui sont prépondérantes.

52 - Lésions tissulaires

Elles n'ont aucune des caractéristiques habituellement rencontrées dans les maladies immunologiques (tels que les dépôts fibrinoïdes par exemple). Il ne s'agit que de lésions de purpura, d'étendue et d'intensité très variable.

6 - CLASSIFICATION

Il est clair que le P.T.I n'est pas un seul désordre, mais bien l'expression d'un syndrome comprenant diverses entités que nous allons classer :

61 - Le P.T.I est idiopathique lorsqu'il ne peut

MEDICAMENTS RESPONSABLES DE PURPURAS THROMBOCYTOPENIQUES CHEZ L'HOMME

ACETAZOLAMIDE	NOVOBIOCINE
A.ACETYLSALICYLIQUE	PARACETAMOL
ALIMEMAZINE	PHENACETINE
AMIDOPYRINE	PHENYLBUTAZONE
APRONALIDE	PROMETAZINE
CHLOROTHIAZIDE	QUINIDINE
CHLOROQUINE	QUININE
CHLORPROMAZINE	RESERPINE
CODEINE	SULFAMIDES
DIGITOXINE	SELS D'OR
HYDROQUINIDINE	
ISONIAZIDE	
LEVOPROMAZINE	

MEDICAMENTS RESPONSABLES DE REACTIONS CUTANEES ALLERGIQUES (ERUPTIONS PURPURIQUES)

BARBITURIQUES
CARBAMIDES
CHLORPROMAZINE
CHLOROTHIAZIDE
SULFAMIDES (antidiabétiques ou diurétiques)

TABLEAU CITE PAR GROULADE (11)

être relié à aucun antécédent pathologique précis.

On en décrit trois types selon l'évolution :

- P.T.I idiopathique aigu
- P.T.I idiopathique chronique
- P.T.I idiopathique récurrent ou récidivant

62 - Le P.T.I est symptomatique ou secondaire lorsqu'il suit ou participe à un processus pathologique reconnu, d'où l'importance d'une analyse soignée des commémoratifs.

Il peut être - induit par un médicament (cf.tableau ci-contre)

- post transfusionnel
- néonatal provoqué par isosensibilisation foeto-maternelle
- inscrit dans le cadre d'autres désordres auto-immuns :

. L.E.A.D (1)

. syndrome de FISHER-EVANS (associant au P.T.I une anémie hémolytique auto-immune)

. Il peut accompagner des désordres lymphoprolifératifs (2)(3)(13)

Le P.T.I symptomatique peut évoluer sur le mode aigu ou chronique ou présenter tous les degrés intermédiaires selon la sévérité des désordres qui l'accompagnent ou le précèdent.

7 - ETUDE SUCCINTE DES DIVERS TYPES CLINIQUES

71 - Le P.T.I aigu (2)(3)

Il atteint le plus souvent les enfants (85% ont

moins de 8 ans) avec une même fréquence dans les deux sexes.

L'apparition du purpura est brutale et s'accompagne d'une thrombocytopénie très marquée (taux $\leqslant$ 20000). Le nombre des mégacaryocytes est normal ou augmenté. Le temps de survie des plaquettes est très court.

Chez les enfants, on constate dans 84% des cas la présence de viroses respiratoires dans les 1 à 3 semaines précédant le P.T.I. sans qu'il y ait toutefois corrélation entre le degré de sévérité de la thrombocytopénie et celui de la maladie précédente.16% des cas sont réellement idiopathiques.

En général, la maladie évolue spontanément vers la guérison dans un délai de une semaine à trois mois. La maladie est rarement fatale à l'enfant. 8% des enfants voient pourtant la maladie s'installer sur un mode chronique.

Chez l'adulte, le P.T.I est souvent secondaire à un médicament et les symptômes sont beaucoup plus graves que chez l'enfant: saignements gastro-intestinaux, hématurie, épistaxis, purpura très étendu et des saignements du système nerveux central ont même été constatés conduisant souvent à une issue fatale.

72 - Le P.T.I chronique (2)(3)

Il se rencontre plus fréquemment dans le cadre idiopathique. Il atteint les jeunes adultes de sexe féminin trois fois plus souvent que les individus de sexe masculin.

Son apparition est insidieuse précédée de commémoratifs indiquant des saignements de nez assez fréquents.

Les manifestations cliniques sont modérées.

Le taux des plaquettes est compris entre 30000 et

80000 et la durée de survie des plaquettes est très variable.

On constate l'alternance de périodes de rémission et de rechute.

Durant les périodes de rémission, le patient ne présente pas de purpura mais le taux de plaquettes reste en dessous du seuil normal (1/3 à 1/2 de la normale).

Dans la majorité des cas, la maladie décroit puis tend à disparaître avec les années.

Chez certains cependant, elle progresse lentement et prend un aspect auto-immun plus complexe avec apparition d'une arthrite rhumatoïde, d'anomalies rénales, voire même un tableau complet de LEAD.

Signalons enfin que sur une série de 147 patients, on a constaté une mortalité de 6,8 %.

73 - Le P.T.I récurrent ou P.T.I périodique ou P.T.I récidivant (2)(3)

Ce type plus rare représente en fait une variété aiguë récidivante durant laquelle alternent des périodes de thrombocytopénie (pendant quelques semaines à quelques mois) avec des périodes de rémission complète pendant lesquelles le taux de plaquettes et leur durée de survie sont normaux.

8 - DIAGNOSTIC

81 - Diagnostic clinique d'exclusion en 4 étapes successives (2)(3)

Le diagnostic de P.T.I peut être posé en procédant par élimination.

BALDINI propose un raisonnement en quatre étapes :

811) 1ère étape

Il faut éliminer certaines thrombocytopénies d'origine centrale (4). Dans le P.T.I, les mégacaryocytes de la moelle osseuse sont en nombre normal ou augmenté.

812) 2ème étape

Il faut exclure les cas de thrombocytopoïèse inefficace (tel l'anémie pernicieuse). A ce stade, on parle de thrombocytopénie périphérique thrombocytolytique.

813) 3ème étape

Il faut exclure les cas de thrombocytopénie associée à d'autres désordres (4), notamment ceux ne relevant pas de processus immunologiques.

Citons :

- les septicémies bactériennes ou virales au cours desquelles les plaquettes peuvent être retirées de la circulation soit parce qu'elles sont agglutinées, soit parce qu'elles sont directement lésées.

- la coagulation intravasculaire disséminée

- l'action de la RISTOCETINE, médicament présentant un effet toxique direct sur les plaquettes qui provoque un racourcissement de leur durée de vie.

- l'hypersplénisme : syndrome au cours duquel la thrombocytopénie est souvent associée à une anémie et une leucopénie. Les plaquettes sont capturées dans la rate en plus grand nombre du fait de sa taille exceptionnelle, mais le taux de destruction plaquettaire est relativement modéré.

Au terme de cette troisième étape, nous sommes en présence d'une thrombocytopénie thrombocytolytique immunologique isolée et d'origine périphérique.

814 - 4ème étape

C'est la définition du type. Il peut être idiopathique ou secondaire.

82 - Tests de laboratoire

Nous nous proposons d'exposer différentes analyses qui peuvent être pratiquées. Certaines relèvent cependant du domaine expérimental.

821 - Etude des mégacaryocytes, des mégathrombocytes et des plaquettes

8211) mégacaryocytes

L'examen histologique de la moelle osseuse peut révèler plusieurs éléments :

- le nombre de mégacaryocytes, reflet de la compensation médullaire, est normal ou augmenté (13)
- le bourgeonnement plaquettaire est très faible ou nul laissant supposer qu'un effet toxique s'exerce à ce niveau (8)
- l'examen, après coloration avec une globuline anti-humaine marquée à la fluoresceïne révèle une fluorescence des mégacaryocytes dans le P.T.I traduisant la présence d'immunoglobulines à la surface de ces cellules.

Cette fluorescence existerait dans 50% des P.T.I chroniques. Elle peut être bloquée par incubation préalable des échantillons de moelle osseuse avec une γ globuline anti-humaine non marquée.

Cependant des mégacaryocytes normaux ont pu donner des réactions positives.

8212) utilité du mégathrombocyte comme index de thrombocytopoïèse (15)

Il existe une bonne corrélation ($r=0,7$ $p < 0,001$) entre le pourcentage ou le nombre de mégathrombocytes et le nombre de mégacaryocytes vus dans la moelle osseuse.

Le pourcentage de mégathrombocytes est augmenté dans les désordres où se manifeste une destruction plaquettaire accrue (P.T.I, L.E.D, P.T.I induits par les médicaments).

Dans le L.E.D . 14 % des patients sont thrombocytopéniques

. 75 % des patients ont un taux de mégathrombocytes accru (ce qui suggère qu'il existe chez eux un état thrombocytolytique compensé. De nombreux patients pourraient être en état d'équilibre précaire avec un P.T.I subclinique).

8213) plaquettes

82131 - Evaluation du taux plaquettaire

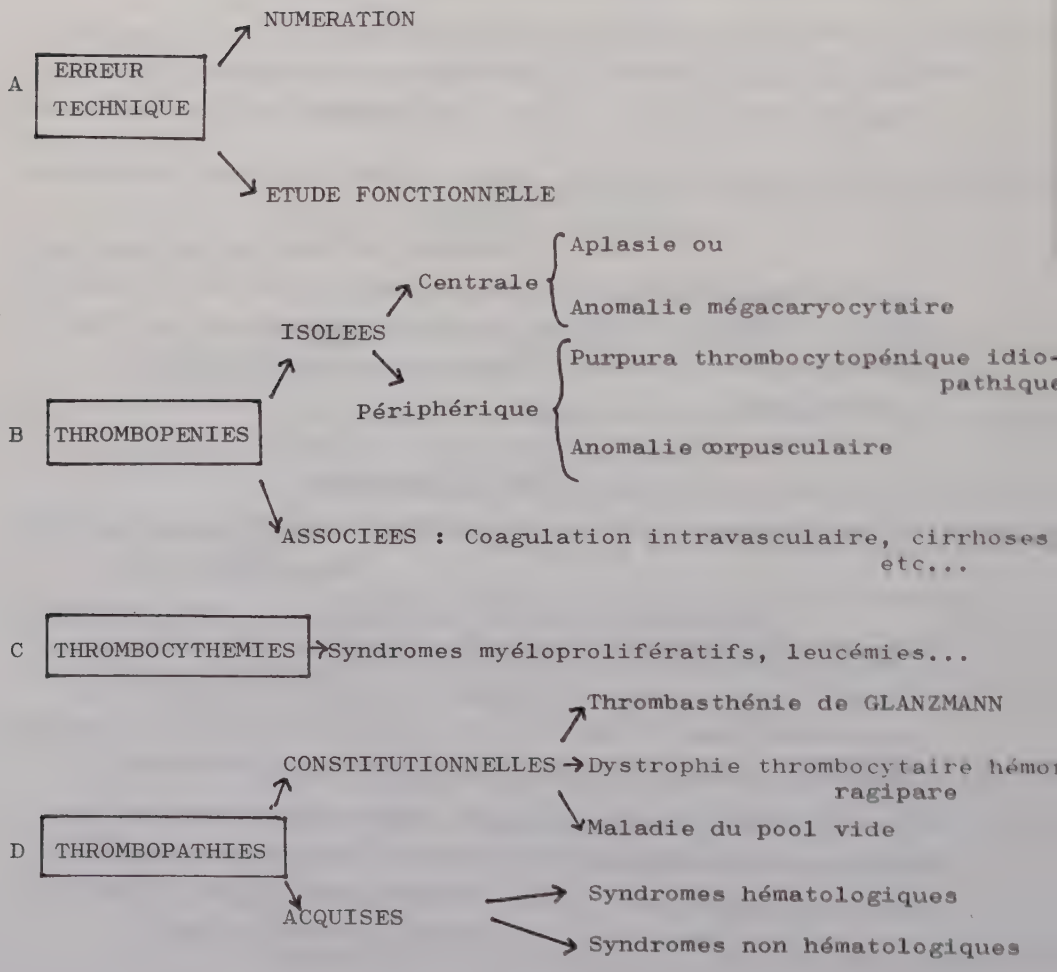
La thrombocytopénie est considérée comme profonde à un taux inférieur à 50000 plaquettes/mm^3 et s'accompagne d'hémorragies cutanéo-muqueuses. La thrombocytopénie est peu sévère entre 50000 et 150000 plaquettes. Elle est surtout découverte lors d'un bilan hématologique systématique.

A un taux inférieur à 150000 plaquettes, il n'y a pas thrombocytopénie bien qu'il puisse exister un processus de thrombocytolyse parfaitement compensé par la moelle (13), ce qui donne toute sa valeur au test suivant :

82132 - Etude de la durée de vie des plaquettes radioisotopiques en allotransfusion

DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE
D'UNE ANOMALIE PLAQUETTAIRE

TABLEAU SYNOPTIQUE



Des plaquettes normales sont marquées au chromate de sodium radioactif et injectées dans la circulation du malade. On utilise un détecteur à scintillation pour suivre leur évolution dans l'organisme.

La durée de vie normale est de 8 à 10 jours; dans le P.T.I, ce laps de temps peut être considérablement raccourci: de quelques heures à quelques jours selon la forme évolutive de la maladie (1).

Là encore, ce test est insuffisant car on constate dans certains cas des durées de vie quasi normales (6 à 8 jours). C'est pourquoi, BALDINI et DAMESHECK ont proposé d'effectuer le tracé de la courbe de survie des plaquettes dont le profil serait caractéristique du type évolutif (2)(8).

82133 - Etude de l'agrégation des plaquettes

Les nouvelles méthodes d'isolement des plaquettes sur gradient d'albumine autorisent l'étude de l'agrégation des plaquettes en cas de thrombocytopénie. Elle permet de mettre en évidence une thrombopathie souvent associée à la thrombocytopénie.

Il nous parait intéressant d'adjoindre à cet exposé un tableau synoptique du diagnostic étiologique d'une anomalie plaquettaire. Il met en évidence la présence de deux groupes d'anomalies, quantitatives (thrombocytopénies, thrombocythémies) et qualitatives (thrombopathies)(4).
Il faut avoir présent à l'esprit qu'elles peuvent être associées à des degrés divers dans le cadre du P.T.I comme le soulignent KARPATKIN et LACKNER(12). On a même pu constater l'association d'anticorps antiplaquettaires et de désordres fonctionnels avec un taux de plaquettes normal. Ce défaut fonctionnel a été mis en évidence lors de P.T.I ainsi que de

L.E.D mais aussi lors de désordres non auto-immuns.

83 - Etude de l'hémostase

L'étude de l'hémostase permet d'apprécier le retentissement de la thrombocytopénie.

831 - Temps de saignement

Elle s'accompagne habituellement d'un allongement du temps de saignement quelle que soit la méthode utilisée.

La méthode de DUKE (4) qui consiste à mesurer la durée de saignement provoqué par une incision horizontale à l'aide d'un vaccinostyle dans la zone médiane du lobule de l'oreille donne les résultats suivants: temps normal: 2 à 4 minutes, allongement significatif au delà de 6 minutes.

La méthode d'IVY (4) mesure le temps de saignement au niveau de trois points à l'avant-bras sous pression permanente continue. Le résultat s'exprime habituellement par la moyenne des trois résultats, sa valeur normale varie entre 3 et 4 minutes.

D'autres méthodes existent, de mise au point plus récente, (temps de saignement quantitatif, méthode d'IVY modifiée par BORCHGREVINK (4)).

832 - Résistance capillaire

Elle est diminuée.

Le test consiste à apprécier la résistance des capillaires au niveau du pli du coude en mesurant le nombre de pétéchies apparues en un temps donné après une dépression (ventouse) ou une compression d'intensité connue (brassard manométrique).

833 - Rétraction du caillot

Il existe un trouble de la rétraction du caillot dans les thrombocytopénies (14)(4). Ce test présente l'intérêt de rester positif plusieurs semaines après la fin de l'épisode aigu.

L'étude de la rétraction du caillot est basée sur la mesure qualitative ou quantitative de l'importance de la rétraction du caillot fibrineux après la coagulation du sang en tube de verre (4). On utilise :

- des tubes à hémolyse parfaitement calibrés, rincés au sérum physiologique tamponné à pH7,3 ou chauffés à la flamme
- un bain-marie
- de la thrombine 10 u.NIH/ml en tampon de MICHAELIS.

Le sang est prélevé sans anticoagulant. Les deux tubes de sang utilisés pour le temps de coagulation sont laissés au bain-marie à 37°C pendant 4 heures.

A la 4ème heure, on apprécie qualitativement la rétraction de 0 à +++ ou mieux, la quantité de sérum exsudé.

La rétraction normale du caillot (exprimée de 0 à +++) est fonction à la fois du chiffre des plaquettes, du taux de fibrinogène et de l'hématocrite. Cette rétraction s'accompagne normalement d'une certaine exsudation des globules rouges qui se traduit par un culot de sédimentation dans le fond du tube qu'il ne faudra pas confondre avec une fibrinolyse.

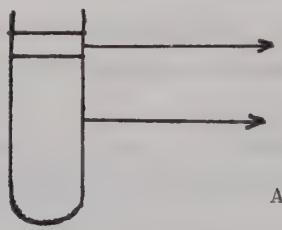
La rétraction du caillot peut également être appréciée sur plasma riche en plaquettes (300000 plaquettes/mm^3)(4).

A 0,6 ml de PRP, on ajoute 0,2 ml de tampon et 0,2 ml de thrombine à 10 u.NIH/ml. La rétraction du caillot débute dès la 15ème minute. Elle est exprimée qualitativement de 0 à 8+ à la 60ème minute.

Un protocole a été mis au point qui permet d'utiliser le test de rétraction du caillot pour les purpuras thrombocytopéniques secondaires à des médicaments.

Résumé du protocole :

Sont mis en présence :



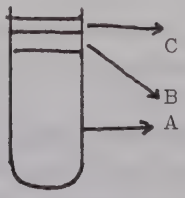
0,2 ml de solution médicamenteuse (B

2 ml de sang frais (A)

A : sang frais issu d'un donneur normal de même groupe sanguin

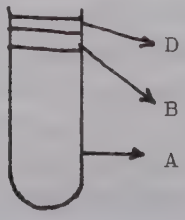
B : solution médicamenteuse à saturatio dans du sérum physiologique

Dans un premier tube on ajoute C



C : 0,2 ml de sérum du malade

Dans un deuxième tube on ajoute D



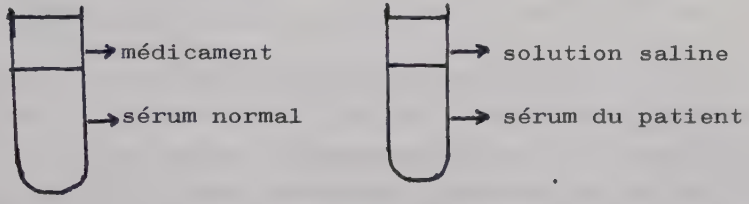
D : 0,2 ml de sérum "normal"

N.B : Le sérum est obtenu en laissant le sang cailler pendant

une heure. La partie non caillée est ensuite centrifugée, on récupère le surnageant après décantation.

Les deux tubes sont remués deux fois et incubés à 37°C (ce qui accélère la rétraction du caillot).

On examine ensuite les deux tubes à deux heures puis à 12 heures. Précisons que cette expérimentation nécessite également la présence de deux tubes de contrôle :



On pourra également compléter l'étude de la rétraction du caillot en tube en mesurant l'amplitude maximale en thrombelastographie* (elle est diminuée lors de P.T.I)(4).

834 - Tests de coagulation

8341) Temps de QUICK (4)

C'est la mesure du temps de recalcification du plasma citraté en présence d'un extrait tissulaire (préparé à partir de cerveau humain ou thromboplastine commerciale). Il mesure la formation de thrombine à partir de la prothrombine en présence des facteurs V,VII et X. Il constitue ainsi un test d'étude de la formation de prothrombinase exogène.

Lors de P.T.I, le temps de QUICK a une valeur normale (4). En présence d'un extrait tissulaire d'activité suffisante, le temps de coagulation doit être compris entre

* La thrombelastographie est la mesure des forces élastiques développées dans le plasma au fur et à mesure de la constitution du caillot

12 et 15 secondes pour le plasma contrôlé. Les résultats obtenus pour le plasma à tester peuvent être exprimés soit en temps, soit mieux en pourcentage par rapport aux plasmas-contrôles selon une droite ou courbe établie à partir de différentes dilutions de plasma normal. (rappelons qu'on n'interprète comme allongement du temps de QUICK qu'un écart de 2 secondes au moins avec le plasma utilisé comme contrôle).

8342) Consommation de prothrombine
(ou mesure de la prothrombine résiduelle)

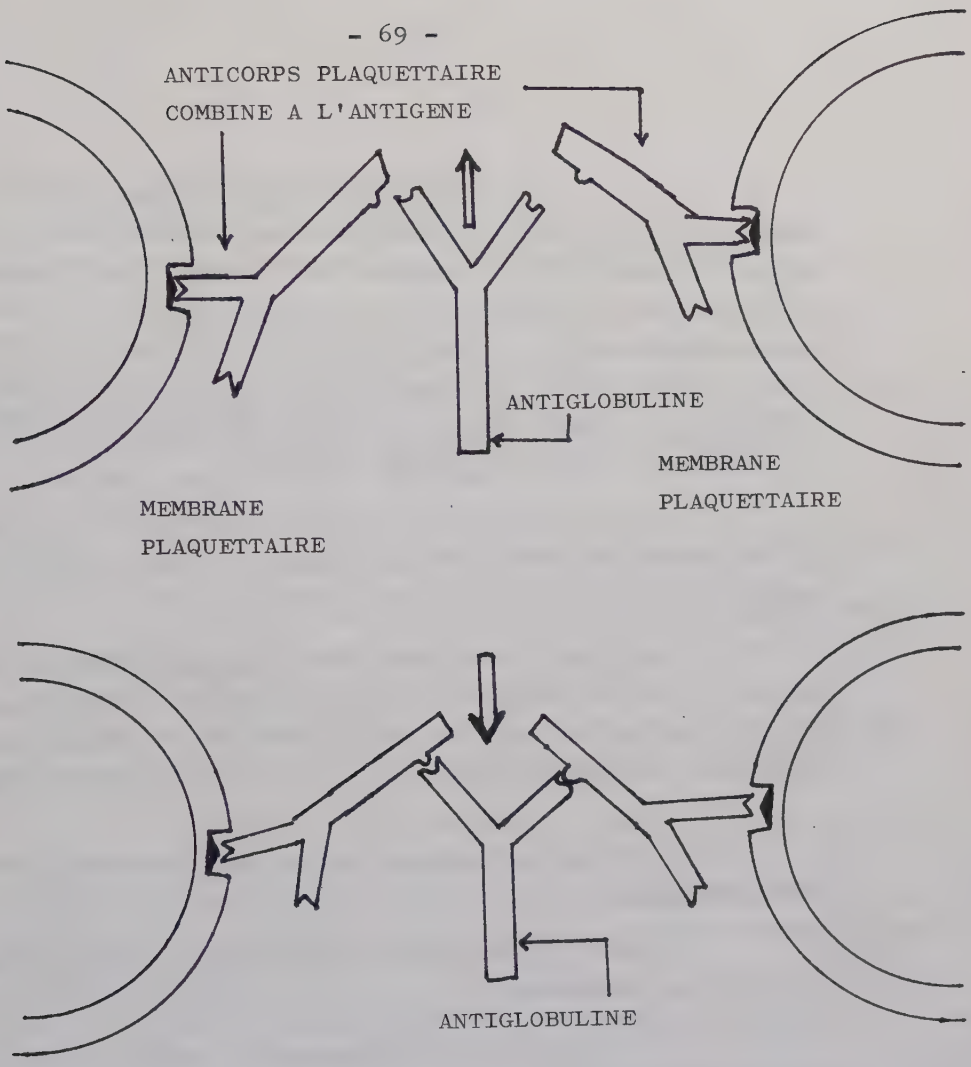
Au cours de la coagulation du sang normal, la prothrombine est totalement convertie en thrombine sous l'action de la prothrombinase. Il ne reste donc que peu ou pas de prothrombine résiduelle dans le sérum. Toute anomalie de la formation de la prothrombinase endogène entraine une diminution de la consommation de la prothrombine et la quantité de prothrombine retrouvée dans le sérum est alors proportionnelle à l'importance du déficit.

Lorsque le réactif "thromboplastine" utilisé donne un temps de QUICK de 12 secondes sur un plasma normal le temp de coagulation du sérum normal, 4 heures après la coagulation est compris entre 25 et 80 secondes.

(Rappelons qu'un temps de 10 secondes correspond à 90% de prothrombine résiduelle). Dans le P.T.I., le résultat de ce test est normal (4).

84 - Tests in vitro de mise en évidence d'immunoglobulines à la surface des plaquettes

841 - Le test de COOMBS direct a été appliqué aux anticorps plaquettaires (3)



(20)

Le sérum antiglobuline permet l'agglutination par liaison de deux molécules d'auto-anticorps.

Ce test, techniquement complexe donne souvent de faux résultats positifs liés sans doute à la possibilité d'agglutination non spécifique par la présence de thrombine (ainsi qu'à la présence éventuelle d'iso-anticorps post transfusionnels).

842 - Le test de DIXON et ROSS (1975)(13) repose également sur le principe d'une consommation d'antiglobuline ;mais ici, les plaquettes recouvertes d'immunoglobulines ne consomment qu'une certaine quantité d'anticorps anti-immunoglobulines humaines, les anti-immunoglobulines persistantes dans le surnageant sont ensuite dosées par leur capacité à se fixer sur des hématies de Mouton préalablement recouvertes d'immunoglobulines humaines.

Ce test, quoique de réalisation difficile, permet non seulement la détection mais aussi la quantification des immunoglobulines présentes sur les plaquettes.

Appliqué à des plaquettes normales préalablement incubées avec le sérum du malade, il permet la détection d'anticorps circulants. Ce test a démontré l'existence d'immunoglobulines plaquettaires dans tous les cas de P.T.I étudiés.

85 - Tests in vitro de mise en évidence d'anticorps sériques

4 tests peuvent être cités dont un est appliqué en médecine vétérinaire.

851 - La thromboagglutination est une technique qui consiste à incuber le sérum du malade avec des plaquettes isolées à partir de sang. Les titres d'agglutination sont les concentrations de sérum les plus basses pour lesquelles une agglutination est observée (14).

852 - La fixation du complément sur plaquette consiste à incuber le sérum du malade avec des plaquettes puis à examiner la capacité du complexe ainsi formé de fixer le complément. Un sérum témoin est incubé avec le complexe et l'activité complémentaire est étudiée

avant et après cette incubation (14).

853 - Dosage de la sérotonine marquée

On incube le sérum d'un malade thrombocytopénique avec des plaquettes normales auxquelles a été incorporée au préalable de la sérotonine marquée. On dose ensuite dans le surnageant les substances libérées par les plaquettes lésées par les anticorps sériques (13).

854 - Tests de libération du facteur plaquettaire 3

Le test a été adapté au Chien, nous en envisagerons le protocole ultérieurement. L'anticorps antiplaquettaire est capable de léser les plaquettes et de libérer ainsi le facteur plaquettaire 3 à un taux accru, ce qui provoque un raccourcissement du temps de coagulation de la fibrine.

Le sang est recueilli sur citrate de sodium à 3,8 % (1 volume pour 9 volumes de sang) en tubes non mouillables. Le P.R.P est obtenu par centrifugation à 150 g pendant 10 mn. Le P.P.P est obtenu par centrifugation à 27000 g pendant trente minutes.

Citons les différentes techniques utilisées :

8541 - disponibilité en présence de kaolin

Deux méthodes mesurent la disponibilité du facteur plaquettaire 3 en présence de kaolin dans un plasma citraté riche en plaquettes :

- la méthode de HARDISTY et HUTTON
- la méthode de SPAET et CINTRON

8542 - disponibilité en présence de célite

Cette méthode consiste à mesurer le raccourcissement

du temps de recalcification après activation par la célite d'un plasma en présence d'un nombre connu et constant de plaquettes.

La valeur moyenne de disponibilité du F.P.3 est de 55 plus ou moins 3 secondes. Un écart de 7 secondes en plus ou en moins de la valeur moyenne doit être interprété comme une disponibilité réduite ou augmentée du F.P.3.

Le test est délicat; il doit être pratiqué dans un délai bref, inférieur à 3 heures suivant le prélèvement. Le plasma est conservé en tubes de verre siliconé ou en plastique neuf à la température de la pièce.

86 - Recherche des manifestations d'une hypersensibilité de type retardé

Nous nous bornerons à en résumer le principe.

861 - Test de transformation lymphoblastiqu (20

En présence de substances dites mitogènes ou d'antigènes, les petits lymphocytes thymodépendants voient leur taille augmenter, ainsi que la synthèse d'A.R.N suivie de celle de l'A.D.N.

La transformation est aisément évaluée in vitro par culture des cellules en présence de précurseurs radiomarqués des acides nucléiques (thymidine C^{14*} pour l'A.D.N et uridine C^{14*} pour l'A.R.N.

862 - Test d'inhibition de la migration des macrophages (13)

Les lymphocytes sensibilisés produisent au cours de leur exposition à l'antigène spécifique des produits

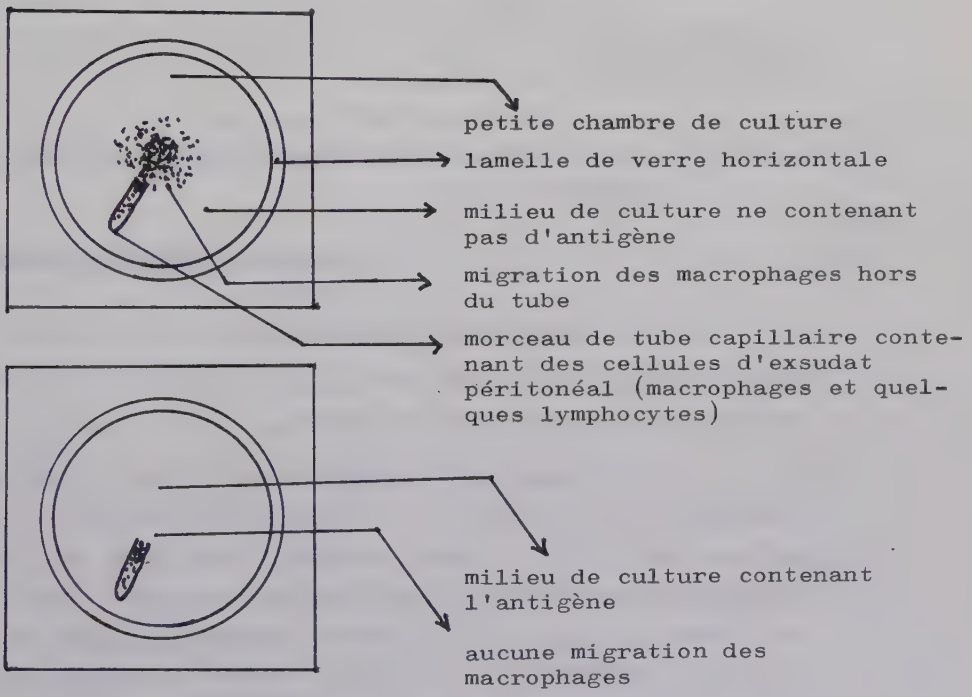
solubles appelés lymphokines.

Elles ont trois rôles: recruter des lymphocytes non engagés, retenir ces cellules au niveau de la réaction inflammatoire et les activer de façon à ce qu'elles prennent part à la réponse inflammatoire.

Le plus connu de ces facteurs a la propriété de prévenir in vitro la migration des macrophages sur une surface de verre.

En effet, les macrophages mis en culture dans de petits tubes capillaires migrent normalement hors de l'orifice ouvert de ces tubes vers le milieu de culture.

Nous pouvons schématiser ce test ainsi :



87 - Bilan immunologique et recherche systématique d'anomalies auto-immunes associées

871 - Bilan immunologique (13)

Il est particulièrement intéressant dans les formes idiopathiques dont l'évolution ne s'inscrit dans aucun contexte auto-immun évocateur. Cependant les anomalies observées sont inconstantes. Il s'agit essentiellement d'une hyperimmunoglobulinémie (augmentation des Ig M), d'un déficit en Ig A, de la présence de complexes immuns circulants ainsi que d'un titre faible d'anticorps - antitissus (anti-nucléaires, anti-muscles lisses).

Enfin, rappelons que le P.T.I peut accompagner des désordres lymphoprolifératifs (leucémie lymphoïde chronique et quelquefois les lymphomes).

872 - Recherche d'anomalies auto-immunes associées (13)

8721) le lupus érythémateux disséminé (L.E.D)

Se traduit cliniquement par des atteintes multifocales et biologiquement par la présence de plusieurs variétés d'auto-anticorps sériques.

On recherchera les anticorps antinucléoprotéines (présents dans 8 à 98% des cas) selon l'évolutivité, et les facteurs anti D.N.A (présents dans 0 à 87% des cas) selon l'évolutivité; on dosera les F.A.N globaux par immunofluorescence indirecte sur noyaux entiers. La mise en évidence des cellules L.E. est un argument de grande valeur en faveur du diagnostic de lupus (14).

On peut citer encore:

les techniques de précipitation, de fixation du complément, d'hémagglutination passive (H.A.P), la technique radio-immunologique de FARR (13).

8722) Les anémies hémolytiques auto-immunes (A.H.A.I) dont l'association avec le P.T.I constitue le syndrome de FISHER-EVANS : cette anémie, conséquence de l'action pathogène d'auto-anticorps dirigés contre les constituants de la membrane érythrocytaire, s'exprime de façon plus ou moins intense selon le degré d'hyperhémolyse et la capacité de compensation par la moelle osseuse. Sa nature est confirmée par la mise en évidence des auto-anticorps en cause.

Les anticorps anti-érythrocytaires sont essentiellement recherchés par des méthodes d'hémagglutination.

La détection des anticorps incomplets (non agglutinants) repose sur les tests de COOMS direct et indirect (13).

9 - TRAITEMENT

91 - Traitement de soutien (2)(3)

La transfusion de plaquettes peut être envisagée lors de traumatismes afin de juguler un épisode de saignement très important (en association avec des corticoïdes), ou bien encore en vue d'effectuer une intervention chirurgicale.

La quantité de plaquettes transfusées est fonction du résultat obtenu.

92 - La splénectomie (2)(3)

Dans 60 % des cas, on observe une bonne rémission (qui peut parfois n'apparaître que 2 à 4 semaines après l'intervention).

Dans 10 à 20% des cas, le taux de plaquettes ne sera amélioré que pendant quelques semaines.

Enfin dans 10 à 20 % des cas, il n'y aura aucune amélioration.

Les patients qui ne répondent pas à la splénectomie sont surtout ceux dont le taux d'anticorps est élevé et chez qui la destruction des plaquettes fortement recouvertes d'anticorps a lieu préférentiellement dans le foie.

Cependant 40 % des malades ont à la fois un lieu de séquestration splénique et hépatique.

La splénectomie, qui fut un certain temps, utilisée d'emblée perd tout son intérêt dans la maladie aiguë, aisément controlée par les corticoïdes.

93 - Les corticoïdes (2)(3)(7)

Ils n'ont pas d'effet direct sur l'union antigène-anticorps mais ils inhibent la fonction de séquestration par le S.R.H. principalement au niveau de la rate, assurant de ce fait la survie des plaquettes qui ne sont que légèrement sensibilisées.

Ils stimulent la production des cellules de la moelle osseuse et par conséquent favorisent l'augmentation de la production plaquettaire et ce, même à faibles doses.

Enfin ils ont un effet non spécifique favorable en augmentant la résistance des vaisseaux (à la dose de 10 mg pa jour)

Tous les types de corticoïdes ont donné de bons résultats. La prednisolone est fréquemment utilisée. Dans certains cas où cette dernière s'était avérée inefficace, l'ACTH a donné de bons résultats.

- Dans 60 % des cas, le résultat escompté est obtenu avec des doses de :

1 à 1,5 mg par kg de poids et par jour de prednisolone

- Dans 10 % des cas, cette dose doit être portée à 1,5 à 2 mg par kg de poids et par jour.

Les résultats sont inconstants dans 30 % des cas et si la dose de 15 mg par kg de poids et par jour est atteinte, on doit recourir à la splénectomie.

Après une splénectomie inefficace, on a cependant la possibilité de réduire la dose de corticoïdes.

Signalons enfin que bien qu'une forte dose de corticoïdes puisse être nécessaire pour assurer la rémission d'une diathèse hémorragique dangereuse, le maintien pendant trop longtemps d'un taux élevé de corticoïdes peut entraîner une rechute et, pendant cette rechute, la suppression progressive des corticoïdes peut avoir l'effet apparemment paradoxal d'entraîner une augmentation du taux des plaquettes (7).

94 - Les agents immuno-suppresseurs (2)(3)

Ils doivent être réservés aux cas "critiques" car les risques d'aplasie de la moelle osseuse avec leucopénie et anémie ainsi que l'apparition de troubles gastro-intestinaux sont importants.

- La 6-mercaptopurine stabilise, à la dose de 2,5 mg par kg de poids et par jour

- La thioguanine à celle de 2,0 mg par kg de poids et par jour

- L'azathioprine à celle de 3,0 mg par kg de poids et par jour

- Citons encore l'Imuran, la cyclophosphamide et la vincristine.

5EME PARTIE

LE PURPURA THROMBOCYTOPENIQUE IMMUNOLOGIQUE CHEZ LE CHIEN

1 - DEFINITION

Le P.T.I du Chien peut être défini à la lumière des données reconnues chez cet animal, comme une diathèse hémorragique d'apparition généralement soudaine et d'intensité variable dont les symptômes cliniques s'accompagnent de différents traits constants.

11 - Conditions d'apparition

Cette maladie se développe vers l'âge de 5 ans et touche deux fois plus de femelles que de mâles (4).

12 - Modifications hématologiques

Le taux de plaquettes diminue et leur durée de vie est raccourcie.

Il apparait une diminution en général modérée des paramètres des globules rouges en relation avec l'anémie dûe au sang extravasé.

13 - Modifications histologiques

Les mégacaryocytes existant en nombre normal ou diminué dans la moelle osseuse présentent souvent des signes de dégénérescence cellulaire accompagnés d'une absence de bourgeonnement plaquettaire (5).

14 - Modification de certains critères de l'hémosta

Augmentation du temps de saignement et du temps de rétraction du caillot, test de fragilité capillaire positif alors que le temps de coagulation et le temps de QUICK sont normaux.

15 - Présence d'anticorps antiplaquettaires

On les trouve dans le sérum ou à la surface des plaquettes et des mégacaryocytes de l'animal malade. Le purpura thrombocytopénique est idiopathique lorsqu'il ne peut être relié à aucun antécédent pathologique précis.

Il est dit symptomatique ou secondaire s'il s'inscrit dans un processus pathologique reconnu. (purpura thrombocytopénique secondaire à l'utilisation de médicaments,au développement de désordres lymphoprolifératifs, purpura thrmbocytopénique lors de désordres auto-immuns tels que le L.E.D et les A.H.A.I (4)(15).

2 - HISTORIQUE

- en 1959: H.J. et WG.HAGRANE publient un article décrivant un cas de P.T.I.
- en 1963; R.S.BRODEY et O.W.SCHALM décrivent un cas d'hémobartonellose accompagné d'un P.T.
- en 1964: G.M.GOWING expose à son tour 2 cas de P.
- en 1963: LEWIS et ses collaborateurs décrivent un syndrome d'anémie hémolytique auto-immune accompagné d'une thrombocytopénie.
- le même auteur signale en 1965 que les Chiens atteints de L.E.D. peuvent présenter des thrombocytopénies au cours de l'évolution de leur maladie.
- en 1973: WILKINS et ses collaborateurs appliquent

le test au P.F 3 pour détecter la présence d'auto-anticorps antiplaquettaires chez un groupe de Chiens atteints de P.T.I. Ces auto-anticorps appartiennent à la classe des Ig G.

- en 1976 JOSHI et JAIN décrivent leurs études relatives à la détection d'anticorps antiplaquettaires dans le sérum et à la surface des mégacaryocytes de Chiens atteints de P.T.I.

- en 1977 JOSHI et JAIN induisent expérimentalement des thrombocytopénies auto-immunes chez le Chien et étudient les particularités cytologiques de la moelle osseuse au cours de ces affections.

- enfin GROULADE fait état de trois cas de P.T.I dans son ouvrage paru en 1979.

3 - ETIOPATHOGENIE

La thrombocytopénie, qui est à l'origine du syndrome hémorragique observé, est dûe à plusieurs phénomènes.

La production des plaquettes par les mégacaryocytes de la moelle osseuse semble inhibée: les signes de dégénérescence d'un certain nombre de cellules-souches s'accompagnent d'une absence de bourgeonnement de leur membrane cytoplasmique (7)(8). Cependant, il existe une thrombocytopoïèse compensatoire de la part de la moelle osseuse.

La durée de vie des plaquettes est raccourcie car certaines d'entre elles sont rapidement capturées par le S.R.H (16) de la rate et dans certains cas du foie. De 10 jours, leur durée de vie peut tomber à 2 ou 3 jours, voire même à quelques dizaines d'heures (notamment lors de transfusions plaquettaires répétées).

Ces anomalies plaquettaires sont liées à la présence d'anticorps antiplaquettaires dans le sérum, à la surface

des plaquettes à durée de vie raccourcie, (en plus ou moins grand nombre ce qui détermine le lieu de séquestration plaquettaire. Les cellules fortement recouvertes d'anti-corps sont capturées par le foie et la rate tandis que les plaquettes légèrement atteintes sont capturées par le S.R.H. splénique), ainsi qu'à la surface des mégacaryocytes; ce qui n'est pas étonnant puisque plaquettes et cellules-souches productrices ont une parenté antigénique étroite (7).

Ces anticorps antiplaquettaires appartiennent à la classe des Ig G de coefficient de sédimentation 7S dans 75 cas. Dans 25% des cas, il s'agit d'Ig A ou d'Ig M (4).

Les plaquettes intervenant dans le renforcement de l'endothélium capillaire, leur absence se traduira donc par une fragilité accrue de ces vaisseaux.

Des troubles de l'hémostase seront également observés liés à la plus ou moins grande disparition du phénomène fondamental que constitue l'agrégation plaquettaire comme point de départ des mécanismes de la coagulation sanguine.

4 - ETUDE DESCRIPTIVE DES DIFFERENTS CAS CLINIQUES RELEVES DANS LA LITTERATURE

41 - MAGRANE (12)

411 - Signes cliniques

Une femelle Basengi de 4 ans présente les symptômes suivants : incoordination motrice, tendance à tourner en rond, frissons, chutes, pétéchies au niveau des muqueuses.

412 - Signes hématologiques

globules rouges 5 120 000
globules blancs 10 500
formule : polynucléaires neutrophiles 83 %
lymphocytes 12 %
monocytes 3 %
éosinophiles 2 %

413 - Traitement

Il est à base de Vitamine B12, d'extraits de foie, de complexe vitaminique B.

L'amélioration débute au bout de quelques jours. La récupération est totale en 15 jours.

414 - Evolution

- Rechute au bout de deux mois, absence de plaquettes
- Rechute au bout de trois semaines avec une forte anémie (3 400 000 globules rouges) nécessitant une transfusion de 500 ml de sang total.
- Le manque de bonne volonté du propriétaire conduira l'animal vers l'issue fatale.

42 - BRODEY (2)

421 - Signes cliniques

Une femelle KEESHUND de 6 mois présentée pour une ovariohystérectomie de convenance.

Une semaine plus tard: ouverture de la plaie opératoire, prolapsus des viscères et hémorragie sévère. L'animal avait ingéré la moitié de sa rate, d'où la forte hémorragie nécessitant la splénectomie de la partie restante sous transfusion de 250 centimètres cubes de sang total.

Un traitement est instauré à base de pénicilline,

streptomycine, oxytétracycline, prednisolone et chlorpromazine.

- 3 semaines plus tard :

apparition brusque d'une forte boiterie du membre antérieur gauche accompagnée d'un état de tristesse.

Le pouls est accéléré (120), la respiration devient rapide et superficielle. Température: 39°7. Les muqueuses sont pâles et l'animal présente de nombreuses pétéchies sur les gencives, le long des alvéoles, sur la moitié dorsale de la langue.

La peau présente de nombreuses ecchymoses notamment au niveau de l'abdomen, en région inguinale et à la face interne de la cuisse. La boiterie sera attribuée à un hématome intramusculaire ou intra articulaire.

422 - Signes hématologiques et biologiques

Le bilan hématologique effectué au moment de l'intervention était normal,

Celui effectué après la splénectomie d'urgence révèle une anisocytose, une leucocytose avec légère neutrophilie, une monocytose. Le taux plaquettaire est normal.

- Le jour de la boiterie :

. globules blancs: 25 600 dont 80,5 % de polynucléaires neutrophiles

. globules rouges: anisocytose, polychromasie traduisant une érythrogénèse importante

. plaquettes: taux inférieur à 10 000 par mm^3

. recherche d'hémobartonella canis +++

- Le jour suivant : étude de l'hémostase

On constate

. un allongement du temps de rétraction du caillot

. un temps de saignement supérieur à 8 minutes

. apparition d'ecchymoses lors de tests cutanés traduisant une fragilité capillaire accrue

Par contre

. le temps de coagulation et le temps de prothrombine sont normaux

. Examen de la moelle osseuse après aspiration au niveau costal :

Le rapport entre lignée myéloïde et lignée érythroïde est normal. Par contre, les mégacaryocytes sont en nombre très faible.

. Bilan :

Leucocytose pouvant être attribuée à l'effet des corticoïdes
Monocytose sans doute stimulée par la présence de sang extravasé (il est possible également qu'il s'agisse de l'effet à plus ou moins long terme de la splénectomie).

423 - Traitement

- tétracycline : 250 mg per os par jour pendant 3 j.
- prednisolone : 20 mg per os par jour
  mise en route: 48 heures après l'apparition des signes de purpura et de boiterie
- oxyphénarsine : 72 mg par voie intra veineuse

424 - Evolution

L'amélioration est progressive au bout de quelques jours; il n'y a pas de réapparition des symptômes au cours des mois suivants.

43 - GOWING (5)

431 - Cas n°1

Il s'agit d'un Caniche miniature, femelle de 6 ans.

4311) Signes cliniques

- commémoratifs : l'animal est examiné à la suite de saignements chroniques qui durent depuis un mois. Ils ont débuté par une diarrhée hémorragique et des ecchymoses cutanées. L'animal reçoit des transfusions de sang total ainsi que des antibiotiques qui doivent être continués à domicile avec des vitamines.

15 jours après le début des signes, une fièvre intermittente apparait avec extension des ecchymoses cutanées, hémorragies au niveau des muqueuses, saignement spontané des gencives. L'animal continue le traitement initial auquel est adjoint de la vitamine K; il reçoit deux transfusions de sang total.

- examen le jour de son admission : l'animal est vif, sa température est normale; il présente un hématome dorsal en région lombaire et un saignement spontané des gencives souillant les membres antérieurs. On constate de nombreuses pétéchies et ecchymoses au niveau de la peau et des muqueuses, dont la coloration est par ailleurs normale.

4312) Signes hématologiques

L'hémogramme effectué lors du premier mois de l'affection révèle une leucopénie et une anémie modérées.

Le bilan effectué le jour de l'admission révèle une absence totale de thrombocytes; on observe aussi une anémie et une leucocytose modérée attribuées au phénomène hémorragique.

4313)Traitement

Il est à base d'agents anti-anémiques,de pénicilline, de streptomycine et de prednisolone.

4314) Evolution

L'animal meurt rapidement à la suite de deux accès très choquants d'hématémèse.

432 - Cas n°2

Il s'agit d'une femelle bâtarde de 7 ans.

4321) Signes cliniques

Elle est hospitalisée à la suite de l'évolution de saignements spontanés durant plusieurs semaines qui furent traités sans résultat par de la vitamine K et des antibiotiques.

L'animal présente plusieurs ecchymoses sur la muqueuse buccale ainsi que sur la peau où certaines plages hémorragiques couvrent la moitié de la surface d'un membre.

4322) Signes hématologiques

On constate :

. une absence totale de plaquettes sanguines dans le sang circulant où à la surface des mégacaryocytes de la moelle osseuse.

. une anémie modérée

. un temps de coagulation normal

4323) Traitement

On effectue une splénectomie sous perfusion de sang total

4324) Evolution

L'amélioration est progressive avec régression en une semaine de près de 80 % des lésions hémorragiques.

44 - SCHALM (15)
décrit trois cas dans un article paru en 1971.

441 - Cas n°1

4411) commémoratifs et signes cliniqu

Il s'agit d'une femelle Samoyède de 18 mois traitée depuis 3 mois pour anémie et thrombocytopénie. Durant cette période, l'hématocrite était compris entre 14 et 27 % et toute piqûre d'aiguille provoquait des saignements.

L'hospitalisation fut décidée lorsqu'apparut un lar hématome au niveau de l'épaule gauche.

4412) signes hématologiques

En une semaine, l'hématocrite s'effondre de 23 à 10 % . et le taux plaquettaire se maintient à 10000/mm^3.

4413) Traitement

Cette évolution s'est poursuivie jusqu'à la mort de l'animal par diathèse hémorragique le 8ème jour, en dépit de l'instauration d'une corticothérapie.

L'animal reçut 40 mg par jour pendant 3 jours de prednisolone, dose qui fut doublée les quatre jours suivants.

Le 3ème et le 5ème jour, deux transfusions de sang total furent effectuées sans résultat.

L'autopsie révéla que les mégacaryocytes étaient présents dans la moelle osseuse, la rate, le foie, les

ganglions lymphatiques et les poumons.

442 - Cas n°2

Il s'agit d'une femelle Chihuahua castrée de 11 ans

4421) signes cliniques

Une cécité soudaine s'est déclarée, associée à l'apparition de sang frais sur la litière de l'animal. La température était de 40°. L'animal présentait un purpura cutané, notamment en région inguinale, un hyphéma de l'oeil droit, des pétéchies de la muqueuse buccale.

4422) signes hématologiques

hématocrite : 18 %
taux plaquettaire : 10000/mm^3

4423) traitement

Le traitement à la prednisolone (10 mg deux fois par jour) a été suivi d'une augmentation rapide du taux plaquettaire (102000/mm^3 dès J5; 251000 à J8). L'animal fut rendu à son propriétaire avec un traitement quotidien de 2,5 mg de prednisolone.

4424) évolution

Une rechute eut lieu au bout de 3 mois, 26 jours après l'arrêt du traitement. La reprise de ce traitement à la dose de 10 mg par jour ne donna pas de résultats. Elle fut doublée dès le 3ème jour et l'on observa alors une augmentation de 18000 à 383000/mm^3 du taux plaquettaire en l'espace de 4 jours.

443 - Cas n°3

Un Bull-mastiff mâle de 4 ans présentait une adénopathie généralisée avec diagnostic de leucose confirmé et thrombocytopénie.

J1: le taux plaquettaire était de 46000/mm^3

J8: il était de 107 000/mm^3

L'animal fut traité par antibiothérapie, corticothérapie et agents immuno-dépresseurs.

En 9 jours, le taux plaquettaire est revenu à la normale; il s'est maintenu pendant tout le traitement. Toutefois, 3 semaines après l'arrêt de ce dernier, le taux redescendit à 57000/mm^3.

45 - WILKINS (16)

WILKINS décrit dans l'étude d'un lot de 29 Chiens atteints de thrombocytopénie, les symptômes cliniques présentés par 15 d'entre eux dont la fraction globulinique sérique avait donné un test au F.P.3 positif.

451 - signes cliniques

Les signes observés ne diffèrent pas de ceux associés à d'autres thrombocytopénies. Le P.T.I semble se développer plus souvent chez des animaux adultes et avec une fréquence plus élevée chez les femelles. Toutes les races de Chiens sont également exposées.

Les symptômes se développent en l'espace de 3 jours saignements prolongés des orifices externes: nez, bouche, gencives, tractus urinaire, diarrhées et vomissements hémorragiques.

On observe également des pétéchies et ecchymoses au niveau des gencives, de la muqueuss buccale, de la conjonctive, de la sclère ainsi que sur les muqueuss du vagin et

du pénis.

Sur l'abdomen, la présence d'ecchymoses cutanées est fréquente mais les hématomes de grande taille sont accidentels (traumatisme).

L'examen de l'oeil devait révéler des pétéchies de la conjonctive et des hémorragies épisclérales chez la plupart des animaux. Deux d'entre eux présentaient un hyphéma.

Des signes neurologiques se sont développés quand des hémorragies sous-durales ont provoqué une compression de la moelle épinière.

Des signes d'anémie (faiblesse, tachycardie, pâleur des muqueuses) ont été observés chez les animaux ayant souffert de saignements prolongés.

Signalons enfin que:

- la moitié des Chiens présentait de toute évidence les signes d'affections chroniques (otites, gingivites, sinusites, plaies, endométrite).
- deux Chiens étaient néoplasiques (tumeurs mammaires multiples et lipome infiltrant la paroi thoracique)
- deux autres Chiens avaient suivi des traitements très longs (digoxine pour l'un et phénylbutazone pour l'autre pendant plus de 6 mois).

452 - signes hématologiques et biologiques

Globules blancs: leur taux était variable.

Sur 15 animaux :

- 8 présentaient une leucocytose
- 1 présentait une leucopénie
- 6 étaient normaux

Ces données furent associées à l'état général de chaque animal.

-Globules rouges

Une anémie existait chez 10 animaux sur 15, avec augmentation du pourcentage des réticulocytes et des globules rouges nucléés.

- Plaquettes

Tous présentaient une thrombocytopénie. 13 sur 15 à moins de 100000 plaquettes par mm^3 de sang.

Les signes de purpura étaient une manifestation constante en dessous du taux de 50000.

- Electrophorèse des protéines: la distribution était normale sans anomalie de migration des β et γ globulines la plupart du temps.

- Temps de QUICK: normal dans tous les cas

- Enfin 3 chiens avaient un test de COOMBS positif et un chien avait une recherche de cellule LE positive.

46 - JOSHI (7)

étudie un lot de 11 chiens thrombocytopéniques divisé en deux groupes.

- groupe I : 7 Chiens avec un test au F.P.3 positif
- groupe II: 4 Chiens avec un test négatif

461 - signes cliniques

Lors de l'examen initial, tous les Chiens du groupe I présentaient des signes de purpura. Des pétéchies étaient visibles sur la peau de l'abdomen et les muqueuses buccales, nasales et vaginales.

Des ecchymoses furent observées au niveau de l'abdomen, ainsi que dans le conduit auditif d'un animal.

Un Chien présentait de l'épistaxis, un autre

souffrait de méléna et d'hématurie.

La température en général normale s'est élevée à 38°8 chez un animal et 39° chez un autre.

462 - signes hématologiques

. Globules blancs: les résultats enregistrés sont très variables.

. Etaient observées:

- une leucopénie sur 5 animaux
- une leucocytose avec neutrophilie sur deux autres
- une monocytose sur 4 animaux
- une lymphopénie sur 1 animal
- une absence d'éosinophiles sur 2 animaux, alors qu'un autre présentait une éosinophilie certaine.

. Globules rouges : il y avait une anémie plus ou moins prononcée selon l'importance des signes cliniques avec diminution de la concentration plasmatique des protéines et de l'hématocrite.
(exemple : Chien 4: globules rouges = 1200000, hématocrite = 12 % ; concentration en protéines plasmatiques = 5,2 g/l)

. Thrombocytes: tous les Chiens étaient thrombocytopéniques avec des taux plaquettaires compris entre 3000 et 60000/mm^3.

47 - GROULADE (6)

Dans son ouvrage "clinique canine" GROULADE rapporte l'observation de trois cas de purpura idiopathique :

- un Setter Laverack de 6 ans
- un Epagneul Breton de 13 ans
- un Cocker de 7 ans

471 - signes cliniques

Chez tous, les premiers symptômes ont été une asthénie accompagnée d'inappétence pendant 8 à 15 jours, suivie de l'apparition d'hémorragies dermiques sous forme de pétéchies et d'ecchymoses.

Une fièvre intermittente est apparue chez un animal.

Chez le Cocker, les ecchymoses de l'abdomen prenaient une teinte violacée au moment de la digestion.

Les muqueuses pâlissent un à deux mois après le début des signes.

472 - signes hématologiques et biologiques

Ils se résument ainsi :

. Globules blancs :
- leucopénie dans deux cas
- leucocytose dans un cas

. Globules rouges :
- anémie avec sédimentation érythrocytaire accélérée

. Thrombocytes :
thrombocytopénie avec un taux de plaquettes toujours inférieur à $50000/mm^3$

5 - LESIONS

51 - Lésions macroscopiques

Ce sont des lésions qui peuvent se localiser à tout endroit. Mais on observe ce phénomène, préférentiellement:

511 - au niveau de la peau

Dans les zones déclives (abdomen et face interne des cuisses) généralement glabres où les lésions sont de taille variable: de simples pétéchies, des ecchymoses plus ou moins étendues ou bien des hématomes, ces derniers résultant de traumatismes.

512 - au niveau des muqueuses

où le purpura s'accompagne de saignements: muqueuses nasales, digestives, génitales ou même urinaires. Les muqueuses sont plus ou moins anémiées selon l'importance du purpura.

La rate ne présente pas de splénomégalie.

513 - WILKINS (16)

il note lors de l'autopsie de deux Chiens morts à la suite d'une hémorragie soudaine et massive

- l'existence d'un hémothorax chez l'un des animaux
- la présence d'un hématome sous-dural étendu dans la partie antérieure du cerveau chez l'autre.

514 - GOWING (5)

GOWING pour sa part, fait la description suivante:

- large hématome sous-cutané dans la zone dorso-lombaire
- nombreuses hémorragies de la peau et des muqueuses
- présence de 50 cm^3 de liquide sanguinolent dans la cavité péritonéale
- quantité modérée de sang hémolysé dans l'estomac et l'intestin grêle
- vésicule biliaire contenant du sang en nature
- reins pâles, urines teintées de sang dans la vessie

- moelle rouge abondante dans les fémurs et les côtes.

52 - Lésions microscopiques

Les lésions intéressantes dans le cadre du P.T.I siègent au niveau de la rate et de la moelle osseuse.

521 - Rate

5211) selon MAGRANE (12)

On constate une prolifération marquée des cellules endothéliales emballant la pulpe splénique. Quelques zones montrent une prolifération des centres germinatifs avec augmentation par endroits du nombre des mégacaryocytes. La pulpe ne présente pas d'hémorragies.

5212) selon GOWING (5)

L'examen révèle une érythropoïèse extramédullaire importante, de l'hémosidérose, des hémorragies diffuses. Les mégacaryocytes sont nombreux mais non bourgeonnants.

522 - Moelle osseuse

Elle a fait l'objet d'un examen approfondi de la part de plusieurs auteurs, soit après coloration à l'hématoxylin-éosine, soit après utilisation d'isothiocyanate de fluorescéine.

Dans leur étude expérimentale, JOSHI et JAIN (8) effectuent les prélèvements de moelle osseuse au niveau des côtes (8) ou de la crête iliaque (7).

Dans les 24 h à 96 h suivant l'induction de la thrombocytopénie, on constate des transformations morpholo-

giques du mégacaryocyte.

La cellule prend un aspect "écumeux" avec absence plus ou moins grande de granulations ou de vacuoles. De temps en temps, un mégacaryocyte lésé est entouré de cellules mononucléées.

Le noyau du mégacaryocyte mature (comme celui du promégacaryocyte) subit également des modifications: la chromatine prend un aspect anormal, le noyau se gonfle, on constate des phénomènes de caryorhexis et de caryolyse (7) (8). L'immunofluorescence de ces cellules est forte à modérée.

Le rapport des mégacaryocytes matures et des mégacaryocytes immatures s'inverse après induction du purpura thrombocytopénique; les cellules immatures deviennent plus nombreuses.

Le rapport normal mature-immature est de 2,35. 5,25 à 1 avec

- mégacaryocytes matures: 70 à 84 %
- mégacaryocytes immatures: 16 à 30 %

et pourcentage d'anomalies nul.

Dans les cas de P.T.I, ce rapport est de l'ordre de 0,45/valeur moyenne sur 8 cas) à 0,33 (valeur minimale) à 1 avec en moyenne :

- mégacaryocytes matures : 31 %
- mégacaryocytes immatures : 69 %
- pourcentage d'anomalies : 43 % (7)

6 - DIAGNOSTIC

61 - Diagnostic différentiel

Il existe des purpura toxiques dus à des composés benzoliques, à des dérivés de la coumarine, à des venins,

des purpuras consécutifs à l'administration d'oestrogènes, de certains sulfamides, de pyramidon ou accompagnant l'urémie chronique à un stade avancé. Il faut également distinguer le P.T.I de purpuras d'origine infectieuse : maladie de Carré, leptospiroses, hépatite infectieuse et autres maladies virales ou bactériennes (5)(12).

Au cours de ces différentes affections, le temps de QUICK est en général diminué alors que le nombre de plaquettes circulantes est normal (5).

62 - Diagnostic positif

621 - Il est basé sur les signes cliniques de diathèse hémorragique déjà décrits dans les chapitres précédents relatifs aux symptômes et aux lésions macroscopiques.

Une étude soignée des commémoratifs permettra d'écarter les purpuras d'origine toxique, médicamenteuse ou infectieuse.

622 - Cette analyse doit cependant être complétée par différents tests de laboratoire: étude hématologique, étude de l'hémostase, étude histologique de la moelle osseuse et utilisation de méthodes diagnostiques immunologiques.

6221) étude de l'hémogramme

Le sang veineux sera prélevé sur anticoagulant sec (mélange d'oxalates, ou EDTA, ou héparine)

62211 - globules rouges

On peut observer une anémie plus ou moins prononcée selon l'importance des symptômes extériorisés par l'anima

On demandera

- la numération des globules rouges
- l'hématocrite
- le dosage d'hémoglobine
- le calcul du V.G.M(volume globulaire moyen)
- le calcul du C.C.H.H(concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine)

62212 - globules blancs

On demandera leur numération et l'établissement de la formule leucocytaire.

Le taux des globules blancs n'est en principe augmenté que s'il existe une affection concomitante généralement chronique. On constate selon les cas une leucopénie ou bien une leucocytose discrète accompagnée de monocytose.

62213 - thrombocytes

Dans tous les cas de P.T.I, leur nombre est diminué.

La thrombocytopénie sera profonde au dessous de 50000 plaquettes/mm^3 de sang.

Elle sera modérément sévère entre 50000 et 100000/mm^3

La thrombocytolyse peut exister mais être parfaitement compensée par la moelle osseuse et on observe alors des taux de 150000/mm^3 voisins de la normale. Une étude isotopique se justifierait dans ce cas, car elle permettrait d'affirmer que la durée de vie des plaquettes est sensiblement raccourcie (un jour ou deux au lieu de dix).

6222) Etude de l'hémostase

62221 - temps de coagulation

il reste normal, de l'ordre de 6 à 8 mn. Ce test

s'effectue sur du sang veineux mis dans deux tubes à hémolyse que l'on place immédiatement dans un bain-marie à 37° et dont on surveille la coagulation. Ce test est considéré comme peu sensible et infidèle en médecine humaine.

62222 - le temps de QUICK

(dit improprement taux de prothrombine) garde une valeur normale lors de P.T.I. Ce temps est de l'ordre de 12 à 14 secondes, mais il varie selon la thromboplastine utilisée (il en existe une dizaine dans le commerce).

Par contre, on constate dans cette affection une augmentation du temps de saignement et du temps de rétraction du caillot.

62223 - temps de saignement

Il est augmenté au cours des P.T.I (12), sa valeur normale est de l'ordre de 3 mn.

62224) Test de rétraction du caillot

La rétraction du caillot est appréciée sur les tubes ayant servi à la mesure du temps de coagulation après 4 heures de bain-marie à 37°C. Les résultats sont exprimés de 0 à +++ en fonction du rapport sérum exsudé et volume final du caillot.

Lors de P.T.I, la caillot obtenu est lâche et ne se rétracte que faiblement.

62225) Test de fragilité capillaire

La fragilité capillaire est accrue au cours des P.T.I. Elle peut être testée par simple pincement cutané qui amène la formation de pétéchies ou d'ecchymoses durables, ou bien par utilisation d'une ventouse reliée à une seringue

avec laquelle on applique sur la peau une pression négative pendant 10 secondes.

623 - Etude histologique de la moelle osseuse

6231) Description

Cette étude histologique est importante car en révélant un nombre de mégacaryocytes normal ou augmenté avec diminution ou absence de bourgeonnement plaquettaire, elle permet d'éliminer les thrombocytopénies d'origine centrale (aplasie médullaire) et de préciser qu'une mégacaryocytopoïèse compensatoire se développe.

Les lésions observées ont été décrites dans le paragraphe relatif aux lésions microscopiques.

6232) Technique de ponction de la moelle osseuse

Il nous parait intéressant sur le plan pratique de fournir la description d'une technique de ponction de la moelle osseuse aisément utilisable par le praticien. Nous l'empruntons à l'ouvrage de GROULADE déjà cité (6).

On utilisera une aiguille de 15 ou 20/10 de diamètre et 25 mm de long à biseau court ou long avec une seringue de 5 à 10 ml.

L'aiguille sera implantée obliquement pour une meilleure utilisation de la cavité médullaire. L'animal est couché sur le côté droit. Le lieu d'élection est variable:

-Chez le jeune Chien de petit format et les Chiens nains, il s'agit de l'extrémité sternale d'une côte (à deux doigts en avant de l'appendice xiphoïde et à deux à quatre

doigts à gauche de la ligne médiane du sternum).

- Chez les sujets de race moyenne ou grande ainsi que chez les animaux âgés ou ayant une moelle très pauvre, dans la sternèbre correspondante.

L'auteur n'a jamais eu recours à l'anesthésie locale.

Après aspiration avec la seringue, on rejette une goutte sur lame pour étalement. On réalise ainsi 3 à 5 frottis qui sont séchés à l'air.

Ces opérations seront effectuées rapidement afin d'éviter toute lésion des cellules médullaires par coagulation du sang. Il faut utiliser un matériel de prélèvement stérile et désinfecter avec soin le lieu de la ponction avant et après intervention.

La coloration sera faite au May - Grünwald - Giemsa (7).

Une étude par immunofluorescence de la moelle osseuse serait également fructueuse, en permettant la mise en évidence d'anticorps antiplaquettaires à la surface des mégacaryocytes (7)(8). Cependant, son utilisation relève actuellement du domaine expérimental.

624 - Méthodes diagnostiques immunologiques

Pour qu'on puisse affirmer que le P.T.I est un état pathologique auto-immun, il faut révéler l'auto-réactivité du sujet (10).

On pourrait essayer de montrer l'auto-réactivité des lymphocytes T, en utilisant des leucocytes totaux isolés d'un prélèvement de sang sur anticoagulant et en leur appliquant des tests d'inhibition ou de stimulation de la

migration (10).

Pour l'instant, il n'est pas certain que des phénomènes d'immunité à médiation cellulaire interviennent dans la pathogénie de cette affection.

Les seules méthodes diagnostiques immunologiques utilisées actuellement sont les techniques de mise en évidence de la présence d'auto-anticorps plaquettaires. Ces méthodes, basées sur des tests in vitro cherchent à montrer, soit la présence d'immunoglobulines à la surface des plaquettes, soit un effet cytotoxique sur les plaquettes d'immunoglobulines présentes dans le sérum de l'animal malade.

La seule méthode qui fasse l'unanimité des auteurs et puisse être éventuellement demandée par le praticien est la mise en évidence d'anticorps sériques par le test de libération du facteur plaquettaire 3 (4)(7)(8)(16).

6241) Test de libération du F.P.3

Ce test a été décrit par JOSHI et JAIN (7)(8). Il a donné des résultats positifs dans 70 % des cas (4).

Isolement des plaquettes (8) :

Cette méthode nécessite d'abord l'isolement de P.R.P

. On prélève 40 ml de sang à la jugulaire à l'aide d'une seringue en plastique contenant une solution de citrate de sodium à 3,8 %. Il faut avoir une partie d'anticoagulant pour 9 parties de sang.

. Une première centrifugation à 140 g pendant 10 mm permet de récupérer le P.R.P qui est transféré dans des tubes de verre siliconés. On recentrifuge le restant pour récupérer davantage de P.R.P. Le pH est ajusté à 6,4 - 6,5 avec de l'acide citrique 0,15M pour éviter la coagulation des plaquettes.

. Le P.R.P est ensuite placé dans des tubes de verre siliconés, à raison de 6 à 7 ml par tube et centrifugé à 1000 g pendant 15 mn. Le surnageant est éliminé et on ajoute une quantité égale de solution de citrate de sodium pour remettre les plaquettes en suspension.

. On recentrifuge à nouveau à 140g pendant 8 mn pour éliminer tout le matériel cellulaire qui pourrait être éventuellement présent dans la suspension.

. Les plaquettes sont ensuite lavées 3 fois avec du sérum salé physiologique (pH 6,5). On obtient ainsi des concentrations plaquettaires de l'ordre de 385 à 532. 10^6/ml.

Les auteurs décrivent également une technique simplifiée (7) :

- on collecte à l'aide d'une seringue en plastique (contenant 1ml d'une solution de citrate de soude à 3,840% 10 cm^3 de sang d'un Chien normal.

Le sang est réparti dans deux tubes de verre siliconés et centrifugé à 140g pendant 10mn. Le surnageant constitue le P.R.P: il est centrifugé (1ml) à 1000g pendant 10 mn et donne alors le P.P.P. Ce dernier est utilisé pour obtenir le "produit de contact" (un complexe de facteurs XI et XII activés).

- Prélèvement du sérum du malade (7) :

On prélève 3 à 5 ml de sang à l'animal. Le sérum obtenu est chauffé à 56°C pendant 30mn afin d'inactiver le complément. Pour éliminer toute trace de thrombine résiduelle, on utilise deux fois de suite du sulfate de baryum.

. Méthode proprement dite (7) :

On met dans un tube tiédi et siliconé :
0,1 ml de P.R.P
0,1 ml de produit de contact
0,1 ml de sérum de l'animal témoin

On met dans un second tube tiédi et siliconé :
0,1 ml de P.R.P
0,1 ml de produit de contact
0,1 ml de sérum à tester

Le mélange est incubé 5mn à 37°C. On ajoute ensuite 0,1 ml de chlorure de calcium, 0,025 M pour démarrer la coagulation. On retourne le tube pour mélanger le contenu. On examine aussitôt le tube sous une source lumineuse et on observe l'apparition éventuelle de flocons de fibrine.

Un chronomètre démarre dès l'addition de $CaCl_2$, il est arrêté dès l'apparition des premiers flocons.

Ce temps, mesuré en secondes, représente donc le temps de coagulation.

Un raccourcissement de ce temps de plus de 10 secondes par rapport au sérum témoin est considéré comme un résultat positif qui indique la présence d'anticorps antiplaquettaires chez l'animal malade.

Le facteur antiplaquettaire des échantillons positifs peut être caractérisé en effectuant un test de précipitation par une Ig G monospécifique de Lapin anti-Chien.

Dans le même article, JOSHI et JAIN décrivent une seconde méthode (7).

WILKINS fournit également une description de ce test (15).

625 - Recherche d'anomalies auto-immunes associées

Le P.T.I peut être associé aux anémies hémolytiques auto-immunes (11) et au lupus érythémateux disséminé (7). Les manifestations du P.T.I précèdent la maladie, font partie intégrante du tableau clinique ou bien apparaissent tardivement.

Il est donc important de rappeler les signes cliniques de ces deux affections et de préciser quels sont les tests de laboratoires qui autorisent le praticien à conclure de façon certaine à des phénomènes auto-immuns.

6251) Anémies hémolytiques auto-immune

Les AHAI sont définies par la présence d'auto-anticorps dirigés contre des constituants de la membrane érythrocytaire responsables d'une série d'évènements qui aboutissent à la destruction des globules rouges.

Ce syndrome ne semble pas apparaître à un âge particulier ni dans une race précise, cependant il est plus fréquemment observé chez la femelle, qu'elle soit ou non castrée.

70% des AHAI sont secondaires ou associées à une maladie sous jacente (11).

La maladie se traduit cliniquement par l'apparition soudaine d'une anémie hémolytique qui évolue plus ou moins vite.

On constate que l'animal présente des muqueuses pâles, de la faiblesse, une fréquence respiratoire accélérée, une fréquence cardiaque augmentée (avec parfois souffle et syncope)(1).

Ces signes peuvent être accompagnés d'ictère ou

de sub-ictère, avec des selles pigmentées et des urines foncées.

Une thrombocytopénie est associée dans 25 à 50 % des cas(14). Dans quelques cas aigus, on observe de l'anorexie, de la fièvre (1), des vomissements, de la diarrhée, une augmentation du volume des ganglions et de la rate (1)(3)(11).

L'exploration biologique confirme l'anémie clinique: diminution du nombre de globules rouges, du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite. Le calcul de la C.C.M.H. et du V.G.M permet de conclure à une anémie normocytaire normochrome.

L'étude du frottis révèle qu'il s'agit d'une anémie hémolytique (polychromatophilie, anisocytose, poïkilocytose, nombreux sphérocytes (1)(3)(9), le sphérocyte érythrocyte couvert d'anticorps ayant pris une forme sphérique (14) et régénérative (pourcentage important de réticulocytes)(1)(14).

La vérification du diagnostic repose sur l'obtention d'un test de COOBS direct positif (1)(11)(3). Mais l'intensité de cette réaction n'est pas forcément en relation directe avec l'importance des signes cliniques observés (3).

6252) Lupus érythémateux disséminé

62521 - signes cliniques et hématologiques

C'est une affection qui se caractérise cliniquement par une atteinte multifocale, biologiquement par la présence de plusieurs variétés d'auto-anticorps et sur le plan évolutif par une succession d'accès et de rémissions (13).

75 % des animaux atteints sont des femelles entre 2 et 8 ans.

Les organes touchés sont les cellules sanguines, le rein, la peau, les articulations, la plèvre, le tissu conjonctif et les vaisseaux.

Les symptômes correspondent à l'évolution simultanée ou successive :

. d'un syndrome rénal (13) :

- soit une glomérulonéphrite avec forte protéinurie conduisant à l'urémie et à la mort

- soit un syndrome néphrotique au cours duquel la protéinurie est massive. On note aussi une hypoprotéinémie, une hypercholestérolémie ainsi que des oedèmes des membres et de l'ascite.

. d'un syndrome articulaire (13) : on observe une polyarthrite symétrique et ambulatoire avec hypertrophie ganglionnaire, gonflement des capsules articulaires, parfois déformations et ankylose de ces articulations.

. d'une anémie hémolytique analogue à celle déjà décrite (13)

. d'un purpura thrombocytopénique (13) au cours duquel la thrombocytopénie marquée s'accompagne d'une augmentation des mégacaryocytes et des différents symptômes déjà décrits

. enfin, on peut également observer des troubles nerveux, des pleurésies, des péricardites, des polymyosites et des manifestations cutanées (amincissement de la peau, alopécie, croûtes autour de la face et des oreilles) (13).

Le diagnostic repose sur deux types d'examen : les examens de dépistage simples et des examens spécifiques permettant d'établir un diagnostic de certitude.

62522) Examens de dépistage simples (13)

. protéinurie : ++++
. vitesse de sédimentation: accélérée
. globules rouges : anémie normocytaire,normochrome, polychromatophile
. globules blancs : parfois leucopénie, neutropénie, lymphocytopénie
. plaquettes : nombre diminué

62523) Examens spécifiques

Ils sont de trois types

. recherche de cellules L.E
. réalisation du test de COOMBS direct(si les signes observés s'accompagnent d'anémie hémolytique)
. recherche des facteurs antinucléaires par immunofluorescence indirecte.

7 - PRONOSTIC

Si l'animal ne reçoit aucun traitement, le pronostic est sombre car la diathèse hémorragique est souvent fatale.

Le pronostic est également assombri lorsque cette affection est associée à d'autres maladies auto-immunes. Les anémies hémolytiques rechutent après cessation du traitement et le lupus se termine fréquemment par l'urémie et la mort si l'atteinte rénale est trop importante.

Cependant, le traitement médical du P.T.I est susceptible d'apporter de bonnes rémissions dans cette affection qui est le plus souvent chronique.

Son effet bénéfique peut être accru par la splénectomie.

8 - TRAITEMENT DU P.T.I

81 - Contrôle du saignement (6)

Lors d'une anémie sévère, on a recours à des transfusions de sang total prélevé sur A.C.D.

Le sang est injecté dans les 12 heures qui suivent son prélèvement en raison de la grande fragilité des plaquett

Lorsqu'on doit arrêter un épisode de saignement aigu ou lorsqu'on envisage une intervention chirurgicale, il peut être intéressant de transfuser du P.R.P.

Le sang frais collecté sur A.C.D est centrifugé à 1,500 rpm (rotation par minute) 3 à 5mn ou à 80 rpm pendant 10 à 15 mn. On récupère le plasma surnageant (P.R.P.)

L'auteur cite l'exemple suivant: avec 100 ml de P.R.P frais titrant 860000 plaquettes par cm^3, on obtient un arrêt des saignements en deux heures.

82 - Traitement des affections sous-jacentes (16)

Il importe de mettre en évidence et de traiter par une antibiothérapie appropriée toute affection sous-jacente.

Il faut également rechercher et éliminer tout médicament susceptible d'avoir induit le P.T.I.

83 - Corticothérapie (16)

Son intérêt est double. Les corticoïdes permettent une réduction du titre des anticorps antiplaquettaires et inhibent la séquestration des plaquettes par le S.R.H.

La prednisolone est le produit le plus souvent utilisé.

La dose initiale est de 1 à 2 mg/kg PV/jour; elle est maintenue pendant une à deux semaines jusqu'à ce que de nouvelles plaquettes aient été produites.

Ce taux est progressivement diminué à la valeur de 2,5 mg à 5 mg par jour.

La corticothérapie est généralement arrêtée lorsque le taux de plaquettes se stabilise. Il faut savoir qu'en général, sa valeur reste plus basse que la normale (100000 à 200000 plaquettes/mm^3).

84 - Splénectomie (16)

La rate est un des lieux de la synthèse d'immunoglobulines et c'est le site principal de destruction des plaquettes lorsque celles-ci sont modérément recouvertes d'auto anticorps.

La splénectomie n'offre pas d'intérêt dans les cas aigus qui sont bien améliorés par les corticoïdes. Par contre, cette intervention trouve toute son utilité dans les cas chroniques récidivants nécessitant le maintien de fortes doses de corticoïdes préjudiciables à la santé de l'animal, car elle permet une bonne réduction de ces doses.

C O N C L U S I O N

Nous avons exposé dans une première partie un résumé des connaissances actuelles concernant l'anatomie de la plaquette sanguine chez l'Homme.

Nous ne possédons pas actuellement d'études aussi poussées concernant le Chien. Il convient donc de transposer ces données avec prudence.

La seconde partie, consacrée à la physiologie plaquettaire renforce cette idée. En effet, si la mise en jeu des facteurs plasmatiques lors de la coagulation sanguine se déroule de la même façon chez l'Homme et chez le Chien, il faut néanmoins souligner que certaines différences existent.

Par exemple, la transformation du fibrinogène sous l'action de la thrombine, conduit dans l'espèce canine à la libération de trois fibrino-peptides. On constate également que les taux plasmatiques de certains facteurs de la coagulation (V, VIII) diffèrent de façon sensible.

Après avoir réalisé une synthèse des théories relatives à l'autoimmunité, nous avons tenu à aborder les caractéristiques du P.T.I. humain avant de décrire les cas cliniques canins relevés dans la littérature.

Cette étude de la maladie humaine se justifie pour plusieurs raisons :

- du point de vue diagnostique, est proposé un raisonnement d'exclusion en quatre étapes permettant de poser le diagnostic clinique de P.T.I. Après élimination de certaines thrombocytopénies d'origine centrale, il faut exclure les cas

de thrombocytopoïèse inefficace, puis les cas de thrombocytopénies associées à des désordres ne relevant pas de processus immunologiques. Dans un quatrième temps, on définit enfin le type de P.T.I., idiopathique ou secondaire. La mise en oeuvre de tests de laboratoire spécifiques n'intervient qu'ultérieurement afin de confirmer l'impression clinique.

Cet exposé nous a également permis de citer et de présenter bon nombre de tests susceptibles d'être demandés en médecine humaine. Certains ont été transposés avec succès chez le Chien (test de libération du FP_3, examen histologique de la moelle osseuse par des techniques d'immuno-fluorescence).

Enfin, l'étude du P.T.I. humain met en lumière la notion de syndrome. Il ne s'agit pas d'une entité clinique précise, mais d'une affection dont les mécanismes pathogéniques sont probablement multiples et au cours de laquelle on peut constater l'association de désordres plaquettaires quantitatifs et qualitatifs. Son pronostic est donc très variable et son traitement doit être modulé selon les cas.

Le P.T.I. du Chien peut être défini comme une diathès hémorragique d'apparition généralement soudaine et d'intensité très variable dont les signes cliniques s'accompagnent de trait constants :

- Il y a thrombocytopénie et la durée de vie plaquettaire est raccourcie.

- Les mégacaryocytes de la moelle osseuse sont en nombre normal ou diminué et présentent souvent des signes de dégénérescence cellulaire.

(L'analyse de ces paramètres nous permet de conclure à une thrombocytopénie d'origine périphérique).

- L'étude des facteurs de l'hémostase révèle

. une augmentation du temps de saignement et du temps de rétraction du caillot

. un temps de coagulation et un temps de QUICK normaux.

- Des anticorps antiplaquettaires sont présents dans le sérum, à la surface des plaquettes et des mégacaryocytes de la moelle osseuse.

(Ceci permet alors d'éliminer les cas de thrombocytopénie associée à des désordres ne relevant pas de processus immunologiques).

- On établit ensuite la définition du type:

. Le P.T.I. est idiopathique s'il n'est relié à aucun antécédent pathologique précis

. Le P.T.I. est secondaire lorsqu'il suit ou participe à un processus pathologique reconnu; secondaire à un médicament ou inscrit dans le cadre d'autres désordres auto-immuns (L.E.D, A.H.A.I).

Vu : Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

Professeur MAGNOL

Vu : Le Directeur de l'école
Vétérinaire

Professeur R. LAUTIE

Vu : Le Président de la thèse

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
TOULOUSE, le 30.11.1981
L'Administrateur Provisoire
L'Université Paul Sabatier

Professeur DELSOL

Professeur D. BANCEL

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION p.1

A - LES PLAQUETTES SANGUINES OU THROMBOCYTES p.3

1 - Définition

2 - Production

21 - Mégacaryocytopoïèse
22 - Thrombocytopoïèse

3 - Caractéristiques morphologiques et structure plaquettaires

31 - Caractéristiques plaquettaires
32 - Structure plaquettaire

B - PHYSIOLOGIE DES PLAQUETTES - LEUR ROLE DANS LA COAGULATION SANGUINE p.13

1 - Physiologie plaquettaire

11 - Chronologie et description
12 - Mécanismes mis en jeu lors de l'activation plaquettaire
13 - Rôle des prostaglandines et du thromboxane dans l'activation plaquettaire
14 - Régulation de la fonction plaquettaire par la cellule endothéliale

2 - Rôle des plaquettes dans l'hémostase et la coagulation sanguine

21 - Intégrité vasculaire
22 - Effet vaso constricteur
23 - Plaquettes et coagulation sanguine

C - CONCEPT D'AUTO-IMMUNITE ET PATHOGENIE DES MALADIES AUTO-IMMUNES p.35

1 - Définition

2 - Théories de l'auto-immunité

21 - Facteurs favorisant l'auto-immunité
22 - Les théories de l'auto-immunité

3 - Pathologie des maladies auto-immunes

31 - Réactions cytolytiques ou cytotoxiques
32 - Réactions dûes aux complexes immuns toxiques
33 - Réactions à médiation cellulaire

D - LE PURPURA THROMBOCYTOPENIQUE IMMUNOLOGIQUE CHEZ L'HOMME p.49

1 - Introduction

2 - Définition

3 - Historique

4 - Etiopathogénie

41 - Caractère auto-immun du syndrome
42 - Nature et rôle de l'anticorps antiplaquettaire

43 - Rôle possible de complexes immuns

44 - Rôle de l'immunité à médiation cellulaire

5 - Lésions

51 - Lésions cellulaires

52 - Lésions tissulaires

6 - Classification

61 - P.T.I idiopathique

62 - P.T.I symptomatique ou secondaire

7 - Etude succinte des divers types cliniques

71 - Le P.T.I aigu

72 - Le P.T.I chronique

73 - Le P.T.I récurrent

8 - Diagnostic

81 - Diagnostic clinique d'exclusion

82 - Tests de laboratoire

83 - Etude de l'hémostase

84 - Mise en évidence d'immunoglobuline à la surface des plaquettes

85 - Mise en évidence d'anticorps sériques

86 - Recherche des manifestations d'une hypersensibilité type retardé

87 - Bilan immunologique et recherche d'anomalies auto-immunes associées

9 - Traitement

91 - Traitement de soutien
92 - La splénectomie
93 - Les corticoïdes
94 - Les agents immuno-suppresseurs

E - LE PURPURA THROMBOCYTOPENIQUE IMMUNOLOGIQUE CHEZ LE CHIEN p.79

1 - Définition

11 - Conditions d'apparition
12 - Modifications hématologiques
13 - Modifications histologiques
14 - Modifications de certains caractères de l'hémostase
15 - Présence d'anticorps antiplaquettaires

2 - Historique

3 - Etiopathogénie

4 - Etude descriptive des différents cas cliniques relevés dans la littérature

41 - MAGRANE
42 - BRODEY
43 - GOWING
44 - SCHALM
45 - WILKINS
46 - JOSHI
47 - GROULADE

5 - Lésions

51 - Lésions macroscopiques
52 - Lésions microscopiques

6 - Diagnostic

61 - Diagnostic différentiel
62 - Diagnostic positif

7 - Pronostic

8 - Traitement

81 - Contrôle du saignement
82 - Traitement des affections sous-jacentes
83 - Corticothérapie
84 - Splénectomie

CONCLUSION p.112

BIBLIOGRAPHIE p.115

BIBLIOGRAPHIE

1ERE PARTIE - LES PLAQUETTES SANGUINES OU THROMBOCYTES

1 - SCHALM (OW) et LING (GV)
Laboratory notes: the blood platelets. I: production and function - THE CALIFORNIA VETERINARIAN - 1971 - April, pp.6-10

2 - SAVEY (Marc)
Volume et densité plaquettaires chez les animaux domestiques - THESE MEDECINE VETERINAIRE TOULOUSE 1975

3 - WHITE (J.G) et GERRARD (J.M)
Ultra structural features of abnormal blood platelets THE AMERICAN JOURNAL OF PATHOLOGY 1973 June, vol.83 n°3 pp.590-614 et illustrations photographiques

4 - WEISS (H.J)
Platelet physiology and abnormalities of platelet function THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE 1975, september 11 (first part) pp.531-539

5 - CHAP (H)
Communication personnelle; INSERM UIOI Biochimie des lipides hopital Purpan 31052 TOULOUSE

2EME PARTIE

1 - BOURGAIN (RH) ANDINS (R) FINNE (E)
Le rôle des prostaglandines dans l'interaction entre la plaquette et la paroi vasculaire
ARCHIVES INTERNATIONALES DE PHARMACODYNAMIE ET DE THERAPIE, mai 1979, vol.239 (N°1)

2 - CAEN (J), LARRIEU (M.J), SAMAMA (M)
L'hémostase 1975, EXPANSION SCIENTIFIQUE ED: 15, rue St Benoit PARIS 6ème

3 - CHAP (H), PERRET (B), MAUCO (G), SIMON (MF), DOUSTE-BLAZY
Organisation and role of platelet membrane phospholipids as studied with purified phospholipases.
AGENTS AND ACTIONS 1975 vol.9/4 BIRKHAUSER VERLAG BASEL

4 - CHAP(H), MAUCO(G), PERRET(B), DOUSTE-BLAZY(L)
Phospholipidases et synthèse des prostaglandines plaquettaires
Communication personnelle avant parution INSERM UIOI
Biochimie des lipides, hopital Purpan 31052 TOULOUSE

5 - HALL (D.E.)
Blood coagulation and its disorders in the Dog
1972, BAILLIERE-TINDALL ed. (LONDON) pp.1-28

6 - HARVEY (J) WEISS (MD)
Platelet physiology and abnormalities of platelet functio
THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE
. 1975 september 11 293 pp.531-539
. 1975 september 18 293 pp.580-587

7 - HOLMES (IB)
Aspects généraux de la fonction plaquettaire et méthodes de mesure PHARMAC. THER. 1979 vol.5 pp.235-242

8 - MONCADA (S), VANE (JR)
Arachdonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls
THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE 1979 may 17
vol.300 (N°20) pp.1142-1147

9 - NEEDLEMAN (P), WYCHE (A), RAZ (A)
Platelet and blood vend arachidonate metabolism and interactions - J. CLIN INVEST 1979, february, vol63 pp.345-349

10- PACKHAM (M,A) MUSTARD (JF)
Clinical pharmacology of platelets - BLOOD - 1977 october, vol.50, (n°4) pp.555-573

11- RICHEZ (P)
Toxicité aiguë du venin de vipère (V.ASPIS). Etude expérimentale d'une thérapeutique symptomatique
THESE MED.VET. TOULOUSE 1978

12- SCHALM (O.W)
The blood platelets: I production and function - THE CALIFORNIA VETERINARIAN - 1971 april, pp.6-9

4EME PARTIE - MALADIE HUMAINE

1 - ASTER (R.H), KEENE (W.R)
The sites of platelet destruction in I.T.P - BRITISH JOURNAL OF HEMATOLOGY 1969, 16, pp.61-73

2 - BALDINI (M.G)
Idiopathic thrombocytopenic purpura - THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE - 1966, june 2, vol.274, (N°22) pp.1245-1251; 1301-1305; 1360-1367

3 - BALDINI (M.G)
Idiopathic thrombocytopenic purpura and the I.T.P.syndrom MEDICAL CLINICS OF NORTH AMERICA 1972, january, vol.56 (N°1) pp.47-61

4 - CAEN (J), LARRIEU (M.J), SAMAMA (M)
L'hémostase (méthode d'exploration et diagnostic pratique 1975 EXPANSION SCIENTIFIQUE FRANCAISE ed.15,rue St Benoit Paris 6°

5 - CLANCY (R)
Cellular immunity to autologus platelets and serum - blocking factors in I.T.P - THE LANCET 1972, january 1 pp.6-9

6 - CLANCY (R), JENKINS (E), FIRKIN (B)
Qualitative platelets abnormalities in I.T.P
THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE 1972 vol.286 pp.622 et suivantes

7 - COHEN (P) GARDNER (FH)
The thrombocytopenic effect of sustained high dosage prednisolone therapy in thrombocytopenic purpura
THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE , 1961, september 28 vol.265 (n°13) pp.611-617

8 - DAMESHEK(W), EBBE(S), GREENBERG(L), BALDINI(M)
Recurrent acute idiopathic thrombocytopenic purpura
THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE 1963, september 26
vol.269 (n°13) pp.647-653

9 - EBBE(S),WITTELS(B), DAMESHEK(W)
Auto-immune thrombocytopenic purpura ("ITP type") with chronic lymphocytic leukemia - BLOOD, 1962, january, vol.19, (n°1) pp.23-25

10- FIRKIN (B.G), WRIGHT (R), MILLER (S), STOKES (E)
Splenic macrophages in thrombocytopenia - BLOOD 1969
vol.33 pp.240-245

11- GROULADE (P)
Clinique canine 1979 MALOINE ED. (27 rue de l'école de Médecine 75006 PARIS)

12- HANDIN (R), SMITH (AL)
Immuno idiopathic or immunogenic thrombocytopenic purpura
THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDECINE 1972 March 30
vol.286 (n°13) p.720-721

13- JACOTOT (B), REINERT (PH), ROYER (F), SOBEL (A) SYLVESTRE(R)
Immunopathologie 1978 MASSON Editeur 120 Bld st Germain 75280 Paris

14 - KAMOUN (P), FREJAVILLE (J.P)
Guide des examens de laboratoire 1977 Flammarion ed: 20,rue de Vaugirard 75 PARIS 6°

15 - KARPATKIN (S), GARG (SK), SISKIND (G.W)
Auto-immune thrombocytopenic purpura and the compensated thrombocytolytic state - THE AMERICAN JOURNAL OF MEDICINE 1971 July vol.51 (n°1) pp.1-4

16 - KARPATKIN (S), LACKNER (H.L)
association of antiplatelet antibody with functional platelet disorders - THE AMERICAN JOURNAL OF MEDICINE 1975 november vol.59 n°5 pp.599-604

17 - KARPATKIN (S), STRICK (N), KARPATKIN (MB), SISKIND (GW)
Cumulative experience in the detection of antiplatelet antibody in 234 patients with I.T.P, S.L.E and other clinical desorders - THE AMERICAN JOURNAL OF MEDICINE 1972 june vol.52 pp.776-785

18 - MAC MILLAN (R), LONGMIRE (RL), YELENOSKI (R), SMITH (RS) GRADDOCK (CG)
Immunoglobulin synthesis in vitro by splenic tissue in I.T.P. THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE 1972 march 30 vol.286 pp.681-684 (n°13)

19 - WEINTRAUB (R.M), PECHET (L), ALEXANDER (B)
Rapid diagnosis of drug-induced thrombocytopenic purpura J.A.M.A 1962 may 19 vol.180 (n°7) pp.528-531

20 - WEIR (DM)
Immunologie 1980 M.E.D.S.I éditeur 31,rue Falguière 75015 PARIS

5EME PARTIE

1 - AVOLT (MD), LUND (JE), PICKETT (JC)
Autoimmune hemolytic anemia in a dog - J.A.V.M.A 1973 january 1, vol.162 (n°1) pp.45-46

2 - BRODEY (RS), SCHALM (OW)
Hemobartenollosis and thrombocytopenic purpura in a Dog J.A.V.M.A 1963, december 1, vol.143 (n°11) pp.1231-1236

3 - BULL(RW), SCHIRMER (R), BOWDLER (AJ)
Auto- immune hemolytic disease in the dog - J.A.V.M.A 1971, october 1, vol.159 (n°7) pp.880-884

4 - DODDS (W.J), WILKINS (R.J)
Animal model of human disease: canine and equine immune mediated thrombocytopenia and idiopathic thrombocytopenic purpura - AMERICAN JOURNAL OF PATHOLOGY 1978 february vol.86 (n°2) p.489-491

5 - GOWING (G.M)
Idiopathic thrombocytopenic purpura in the Dog J.A.V.M.A 1964 november 15 vol.145 (n°10) pp.987-990

6 - GROULADE (P)
Clinique canine 1979 p.55 pp.633-634 MALOINE ED. 27, rue de l'école de médecine 75006 PARIS

7 - JOSHI (BC) JAIN (NC)
Détection of antiplatelet antibody in serum and on mega-karyocytes of Dogs with autoimmune thrombocytopenia A.M. J. Vet Res. 1976 june vol.37 (n°6) pp.681-685

8 - JOSHI (BC), JAIN (NC)
Experimental immunologic thrombocytopenia in Dogs: a study of thrombocytopenia and megakaryocytopoïesis RESEARCH IN VETERINARY SCIENCE 1977 22 p.11-17

9 - KELLY (JD), FARROW (BRH)
Autoimmune hemolytic anemia in a Dog - AUSTRALIAN VETERINARY JOURNAL 1970 october vol.46 pp.475-479

10 - MONIER, RIGAL
Méthodes d'exploration biologiques dans les maladies auto-immunes 1978 (15-16-17 juin) C.I.V.A.C

11 - OLLEON CHAPPUIS (C)
Contribution à l'étude des anémies hémolytiques auto-immunes du Chien 1979 THESE MEDECINE VETERINAIRE LYON

12 - MAGRANE (M.J), MAGRANE (W.G), ROSS (J.R)
Idiopathic thrombocytopenic purpura in a Dog - a case report J.A.V.M.A 1959 november 15 vol.135 n°10 pp.520-522

13 - MOORE (D.J)
Canine systemic lupus erythematosus: the disease, clinical manifestations and treatment - J. OF THE SOUTH AFRICAN VETERINARY ASSOCIATION 1976, 47 (4) pp.267-274

14 - SCHALM (O.W)
Auto immune hemolytic anemia in the Dog CANINE PRACTICE 1975 march-april p.37-45

15 - SCHALM (O.W)
The blood platelets (thrombocytes): II the thrombocyto-pathics THE CALIFORNIA VETERINARIAN 1971 June pp.6-8

16 - WILKINS (R.J), HURWITZ (A.J), DODDS-LAFFIN (W.J.)
Immunologically mediated thrombocytopenia in the Dog
J.A.V.M.A 1973 august 1, vol.163 (n°3) pp.277-282